

Risultati Circuito MD3 2016

Schema Microbiologia Diagnostica

Circuito Interlaboratorio AQUA Schema Microbiologia Diagnostica

Esame microbiologico:
isolamento e identificazione

ANNO 2016

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Indice

1. Introduzione.....	4
2. Bibliografia.....	4
3. Composizione dei campioni prova.....	5
4. Indicazioni generali.....	5
4.1 Allestimento dei campioni prova.....	5
4.2 Raccomandazioni.....	5
4.3 Gestione dei campioni prova.....	6
4.4 Esecuzione dell'analisi.....	6
5. Determinazioni e valori assegnati.....	6
6. Interpretazione dei risultati.....	6
7. Termini e abbreviazioni.....	6
8. Laboratori partecipanti.....	7
9. Risultati.....	8
9.1 Risultati attesi e risultati osservati per laboratorio partecipante.....	8
9.2 Elaborazioni statistiche.....	9
9.3 Risultati in dettaglio per laboratorio.....	10
9.3.1 Identificazione di genere.....	10
9.3.2 Identificazione di specie.....	12
9.4 K complessivo.....	14
9.4.1 K complessivo per genere.....	14
9.4.2 K complessivo per specie.....	15
9.5 Sensibilità, specificità e accuratezza.....	17
9.5.1 Identificazione di genere: sensibilità, specificità e accuratezza.....	17
9.5.2 Identificazione di specie: sensibilità, specificità e accuratezza.....	18
10. Altre elaborazioni.....	19
10.1 Tempistiche spedizione campioni.....	19
10.2 Tempistiche inizio/fine prova.....	19
10.3 Tipologia di analisi.....	19
11. Discussione.....	20
11.1 Criticità segnalate dai laboratori partecipanti.....	20
11.2 Criticità rilevate dal laboratorio organizzatore.....	20
12. Conclusioni.....	20
Note.....	20

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Responsabile Circuito AQUA-MD Dr.ssa Michela Corrò	e-mail mcorro@izsvenezie.it
Responsabile tecnico Dr. Roberto Perin	e-mail rperin@izsvenezie.it
Responsabile statistico Dr.ssa Marzia Mancin	e-mail mmancin@izsvenezie.it
Assicuratore Qualità Dr. Luciano Iob	e-mail liob@izsvenezie.it

1. Introduzione

Il circuito interlaboratorio di Microbiologia Diagnostica, MD3- Esame microbiologico: isolamento e identificazione, organizzato dal Laboratorio Diagnostica Clinica – Struttura Complessa Territoriale 3, dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, ha come obiettivo il confronto delle metodiche analitiche e lo scambio d'informazioni tecnico-scientifiche tra laboratori. Si propone inoltre di garantire l'assicurazione qualità dei risultati e la valutazione delle performance dei laboratori.

Possono partecipare al circuito sia laboratori territoriali dell'IZSVe, sia laboratori di altri Istituti pubblici e privati; i primi per l'esecuzione delle prove applicano le procedure in uso presso l'IZSVe; gli altri applicano le procedure di prova in uso presso le proprie strutture.

La distribuzione MD3-2016 comprendeva 5 campioni prova preparati utilizzando la matrice tampone con terreno di trasporto contaminata con sospensioni batteriche mono-specie o miste (due o più ceppi), e tamponi sterili, a simulare campioni diagnostici inviati per l'esecuzione dell'esame batteriologico ai Laboratori Territoriali IZSVe.

Per la preparazione delle sospensioni batteriche si sono utilizzati microrganismi di riferimento (ATCC, NCTC) e/o isolati di campo identificati nel corso dell'attività diagnostica.

Per ogni lotto di campioni-prova prodotto, sono state eseguite prove di omogeneità e di stabilità. Tali prove sono state eseguite su tutti i lotti scelti per il circuito e ripetute il giorno della spedizione e a 24, 48, e 72 ore dall'invio.

I campioni prova, opportunamente identificati, sono stati inviati a temperatura controllata (+ 2-+8°C), rispettando le condizioni previste dalla normativa vigente sul trasporto di materiale biologico.

I documenti di carattere generale del circuito AQUA (organizzazione, scheda di sicurezza) e i documenti specifici dello schema Microbiologia Diagnostica - MD (protocollo con modalità operative, modalità per l'inserimento dei risultati, report) sono a disposizione dei laboratori partecipanti sul sito AQUAWEB dell'IZSVe (www.izsvenezie.it).

La valutazione dei risultati è stata effettuata utilizzando la statistica K di Cohen (K) che permette di valutare il grado di concordanza tra risultati attesi e risultati del singolo laboratorio. E' stato inoltre calcolato un K complessivo che valuta la concordanza tra tutti i laboratori partecipanti.

2. Bibliografia

- Douglas C. (2005) "Controllo statistico della qualità". McGraw-Hill Companies
- Grimaldi M., Bordin P., Mioni R., Comin D., Trevisan R., Mancin M., Milan F. (2007) "L'assicurazione della qualità dei risultati tramite l'utilizzo di circuiti interlaboratorio. Esperienze dei laboratori di Microbiologia Alimentare dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie". *Biologi Italiani* 4, 68-73.
- Quinn P.J., *et al.* (1994) "Clinical Veterinary Microbiology". Wolfe Ed., 178-179.
- Hogan, J.S., 1999. Laboratory handbook on bovine mastitis.

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

- Mancin,M., Barco,L., Saccardin,C., Ricci,A. Proposed statistical analysis to evaluate qualitative proficiency testing of Salmonella serotyping. Accreditation and Quality Assurance, 2015, 1-6, Springer Berlin Heidelberg
- Markey B. et al. - Clinical Veterinary Microbiology, Mosby Elsevier, II Ed.2013, 335-343
- Sidney Siegel, *et al.* (1992) “Statistica non parametrica”. McGraw-Hill Companies
- UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2005 “Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura
- ISO\IEC 17043:2010 “Conformity assessment – General requirements for proficiency testing”

3. Composizione dei campioni prova

tampone 1	<i>Streptococcus canis</i> (ceppo di campo), <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (ceppo di campo)
tampone 2	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
tampone 3	Sterile
tampone 4	<i>Mannheimia haemolytica</i> ** (ceppo di campo), <i>Escherichia coli</i> (ceppo di campo)
tampone 5	<i>Pasteurella multocida</i> (ceppo di campo)

**** Importante: non è stata valutata la presenza di *Mannheimia haemolytica* nel tampone n. 4 in quanto isolata da meno del 50% dei laboratori partecipanti**

4. Indicazioni generali

4.1 Allestimento dei campioni prova

1. Preparazione delle sospensioni batteriche con uno o più ceppi batterici
2. Valutazione della crescita in piastra dei diversi ceppi e selezione delle combinazioni batteriche più idonee.
3. Allestimento della matrice “tampone” con terreno di trasporto e conservazione a +2-+8°C.
4. Verifica della vitalità e della stabilità della componente microbica nella matrice tampone, con prove di crescita effettuate al momento della preparazione dei campioni prova, il giorno della spedizione e 24, 48 e 72 ore dall’invio.

4.2 Raccomandazioni

Fino al momento dell’utilizzo, i campioni prova devono essere conservati refrigerati.

Il laboratorio ricevente dovrà segnalare tempestivamente al seguente indirizzo di posta elettronica aqua-md@izsvenezie.it, eventuali problemi riscontrati all’arrivo e all’apertura delle confezioni o il mancato recapito del materiale entro tre giorni lavorativi dalla data di spedizione comunicata.

Indicazioni ulteriori per la manipolazione dei campioni prova sono contenute nella scheda di sicurezza del circuito AQUA, disponibile nei siti AQUAWEB e IZSVE.

4.3 Gestione dei campioni prova

I campioni prova devono essere gestiti come avviene di routine per i campioni diagnostici inviati per esame batteriologico.

4.4 Esecuzione dell'analisi

Inoculare i campioni sui terreni impiegati di routine per l'esame batteriologico (per esempio terreni nutrienti e/o selettivi), sulla base del sospetto diagnostico.

Eeguire incubazione, lettura delle piastre e identificazione dei microrganismi seguendo le procedure in uso presso il laboratorio.

5. Determinazioni e valori assegnati

Determinazione	Valore assegnato	Genere e specie
Esame microbiologico: isolamento e identificazione	Positivo	Identificazione microbica
Esame microbiologico: isolamento e identificazione	Negativo/sterile	//

6. Interpretazione dei risultati

L'analisi dei campioni prova fornisce una risposta di tipo qualitativo: “**Positivo**”, nel caso sia evidenziata la presenza di crescita microbica, in questo caso si procede con l'identificazione delle specie presenti; “**Negativo**”, nel caso in cui non sia evidenziata crescita microbica.

I risultati inseriti dai laboratori partecipanti sono stati elaborati statisticamente utilizzando la statistica K di Cohen, che fornisce una misura dell'accordo (*coefficient of agreement*) tra le risposte qualitative fornite dai laboratori e il risultato atteso.

7. Termini e abbreviazioni

Termini	Abbreviazioni
Concordanza/Riproducibilità	K
Non Pervenuto	np
Significatività statistica	p-value
Presenza/assenza	+/-

8. Laboratori partecipanti

Hanno partecipato al circuito 14 laboratori (due dei quali situati nella stessa provincia: cerchio a due colori nella figura 1)



Figura 1: Laboratori partecipanti

9. Risultati

9.1 Risultati attesi e risultati osservati per laboratorio partecipante

Matrice/ Lab.	Tampone 1 Vagina cane	Tampone 2 Urina gatto	Tampone 3 Congiuntiva gatto	Tampone 4 Polmone bovino	Tampone 5 Trachea suino
Risultato atteso	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Escherichia coli</i> (ceppo emolitico)	Sterile	<i>Mannheimia haemolytica</i> ** <i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L332	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	Sterile	<i>Mannheimia haemolytica</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L342	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus coagulans</i> positivo	<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L348	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i> emolitico	Negativo	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L352	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Escherichia coli</i>	Negativo	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L383	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus coagulans</i> positivo	<i>Escherichia coli</i> emolitico	Negativo (sterile)	<i>Mannheimia haemolytica</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L390	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>E.coli</i>	nessuna crescita	<i>E.coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Streptococcus mitis/oralis</i>
L392	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Escherichia coli</i>	Negativo (esame diretto e indiretto)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L432	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>HLy</i> positivo	Negativo	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Staphylococcus cohnii ssp. urealyticus</i>
L437	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Escherichia coli</i>	Negativo	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Escherichia coli</i>
L441	<i>St. canis</i> <i>S. intermedius</i>	<i>E. coli</i> emolitico	<i>Rothia mucilaginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L455	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	<i>Escherichia coli</i>	sterile	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L538	STREPTOCOCCUS CANIS STAPHYLOCOCCUS INTERMEDIUS	<i>E. COLI</i>	NEGATIVO	<i>E:COLI</i>	PASTEURELLA MULTOCIDA
L655	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	<i>Escherichia coli</i> (ceppo emolitico)	negativo	<i>Mannheimia haemolytica</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
L662	<i>Streptococcus canis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i> <i>Staphylococcus lentus</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Note: 1) in giallo sono evidenziate le identificazioni di genere e/o di specie non concordi con i risultati attesi e in grigio le identificazioni corrette limitate al solo genere.

2) campione n. 4: non valutata la presenza di *Mannheimia haemolytica* in quanto isolata da meno del 50% dei laboratori

3) considerata equivalente l'identificazione di *Staphylococcus pseudintermedius* e di *Staphylococcus intermedius* in quanto la differenziazione di specie è valutabile solo con specifica PCR.

9.2 Elaborazioni statistiche

L'analisi dei campioni del circuito fornisce una tipologia di risposta categoriale che prevede la denominazione dei campioni inviati. E' importante conoscere la validità di un test, cioè la corretta identificazione dei microorganismi contenuti nei campioni. Il Kappa di Cohen è una misura dell'accordo (*coefficient of agreement*) tra le risposte categoriali di un laboratorio e del laboratorio di riferimento detto "gold" standard.

L'indice K di concordanza può assumere valori compresi tra -1 (massimo disaccordo) e +1 (massimo accordo).

Se l'accordo osservato è uguale all'accordo atteso per effetto del caso, K assume un valore uguale a 0 (accordo nullo).

Ad ogni valore di K è associata la significatività (p-value) che indica se l'accordo osservato è reale o semplicemente dovuto al caso.

Per l'interpretazione dei valori del K di Cohen, si rimanda alla scala di *Landis & Koch* riportata di seguito:

K	Riproducibilità
≤ 0	Scarsissima
0.01-0.20	Scarsa
0.21-0.40	Discreta
0.41-0.60	Moderata
0.61-0.80	Buona
0.81-1.00	Ottima

La valutazione della concordanza è stata fatta su due livelli distinti: considerando sia la risposta in termini di genere del microorganismo, sia in termini di specie.

Si riporta di seguito il calcolo della statistica K di Cohen per valutare la concordanza tra esito atteso e risultato del partecipante. Si riportano inoltre i valori di K di Cohen complessivi che valutano la concordanza nella risposta data tra tutti i laboratori partecipanti, sempre in termini di identificazione di genere e di specie.

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

9.3 Risultati in dettaglio per laboratorio

9.3.1. Identificazione di genere

. kap atteso 1000332

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	17.19%	0.8491	0.1523	5.58	0.0000

. kap atteso 1000342

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	17.19%	0.8491	0.1523	5.58	0.0000

. kap atteso 1000348

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	17.19%	0.8491	0.1523	5.58	0.0000

. kap atteso 1000352

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000383

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000390

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000392

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

. kap atteso 1000432

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	15.63%	0.8519	0.1464	5.82	0.0000

. kap atteso 1000437

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	18.75%	0.8462	0.1609	5.26	0.0000

. kap atteso 1000441

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	17.19%	0.8491	0.1523	5.58	0.0000

. kap atteso 1000455

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000538

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000655

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000662

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
62.50%	15.63%	0.5556	0.1342	4.14	0.0000

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

9.3.2. Identificazione di specie

. kap atteso 1000332

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	17.19%	0.8491	0.1523	5.58	0.0000

. kap atteso 1000342

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
75.00%	15.63%	0.7037	0.1392	5.06	0.0000

. kap atteso 1000348

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	17.19%	0.8491	0.1523	5.58	0.0000

. kap atteso 1000352

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000383

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	17.19%	0.8491	0.1523	5.58	0.0000

. kap atteso 1000390

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000392

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000432

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	15.63%	0.8519	0.1464	5.82	0.0000

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

. kap atteso 1000437

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	18.75%	0.8462	0.1609	5.26	0.0000

. kap atteso 1000441

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
87.50%	17.19%	0.8491	0.1523	5.58	0.0000

. kap atteso 1000455

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000538

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000655

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	18.75%	1.0000	0.1654	6.04	0.0000

. kap atteso 1000662

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
62.50%	15.63%	0.5556	0.1342	4.14	0.0000

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

9.4 K complessivo

9.4.1 K complessivo per genere

```
. kapci 1000332 1000342 1000348 1000352 1000383 1000390 1000392 1000432  
1000437 1000441 1000455 1000538 1000655 1000662, estim(bsall) reps(100)  
seed(123)
```

B=100 N=8

```
-----  
Kappa (95% CI) = 0.822 (0.702 - 0.921) (BC)  
                  (0.657 - 0.917) (P)  
                  (0.688 - 0.956) (N)  
-----
```

BC = bias corrected, P = percentile, N = normal

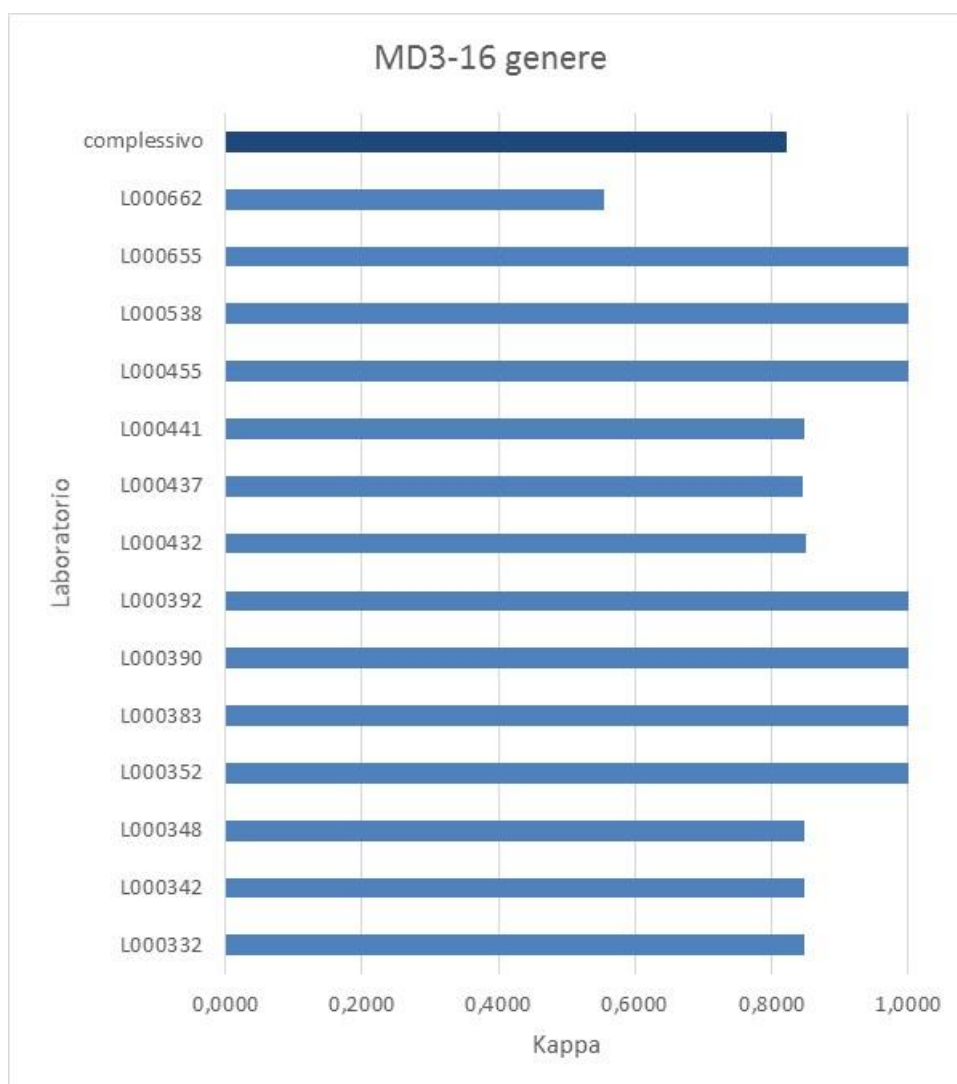


Figura 2: Concordanza nell'identificazione del genere batterico tra esito atteso e risultato del laboratorio partecipante (K singoli laboratori) e tra tutti i laboratori (K complessivo)

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

9.4.2 K complessivo per specie

```
. kapci 1000332 1000342 1000348 1000352 1000383 1000390 1000392 1000432  
1000437 1000441 1000455 1000538 1000655 1000662, estim(bsall) reps(100)  
seed(123)
```

B=100 N=8

Kappa (95% CI) = 0.793 (0.679 - 0.921) (BC)
(0.581 - 0.893) (P)
(0.637 - 0.949) (N)

BC = bias corrected, P = percentile, N = normal

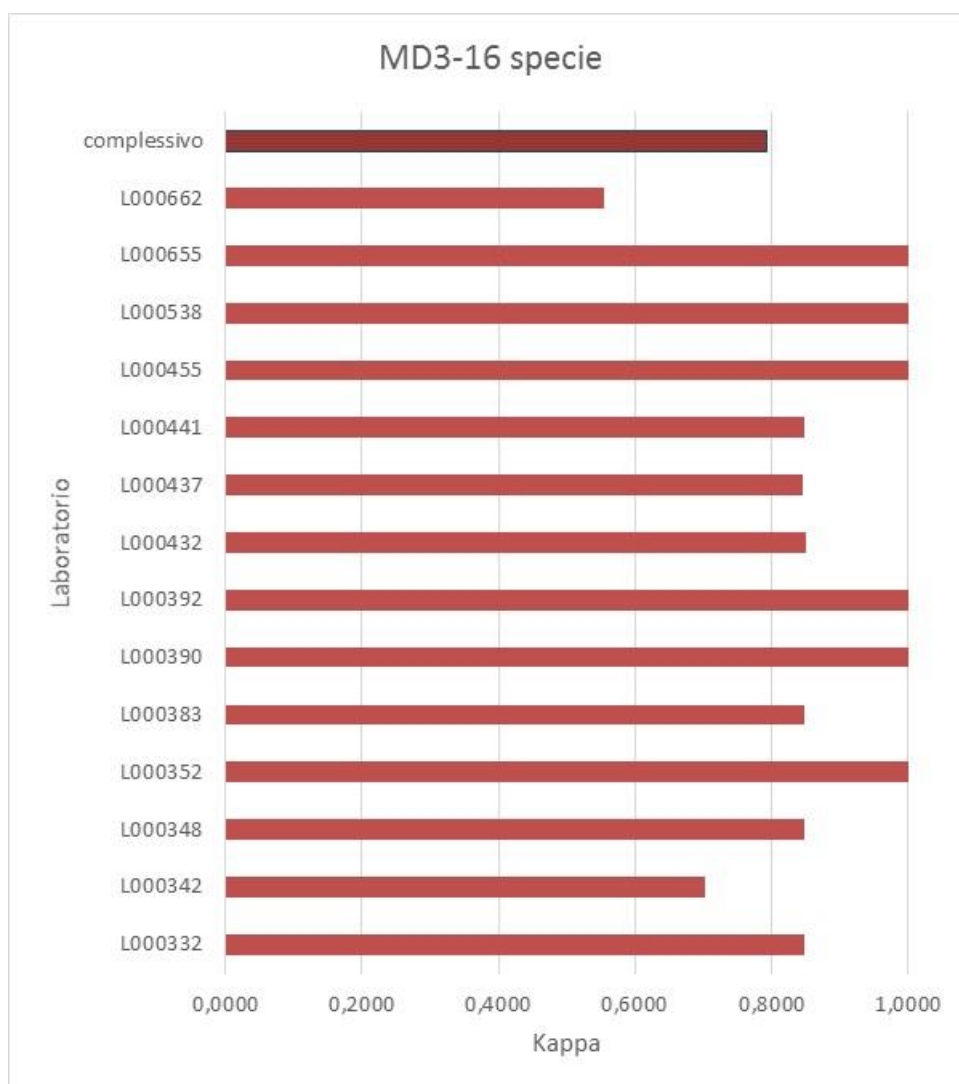


Figura 3: Concordanza nell'identificazione della specie batterica tra esito atteso e risultato del laboratorio partecipante (K singoli laboratori) e tra tutti i laboratori (K complessivo)

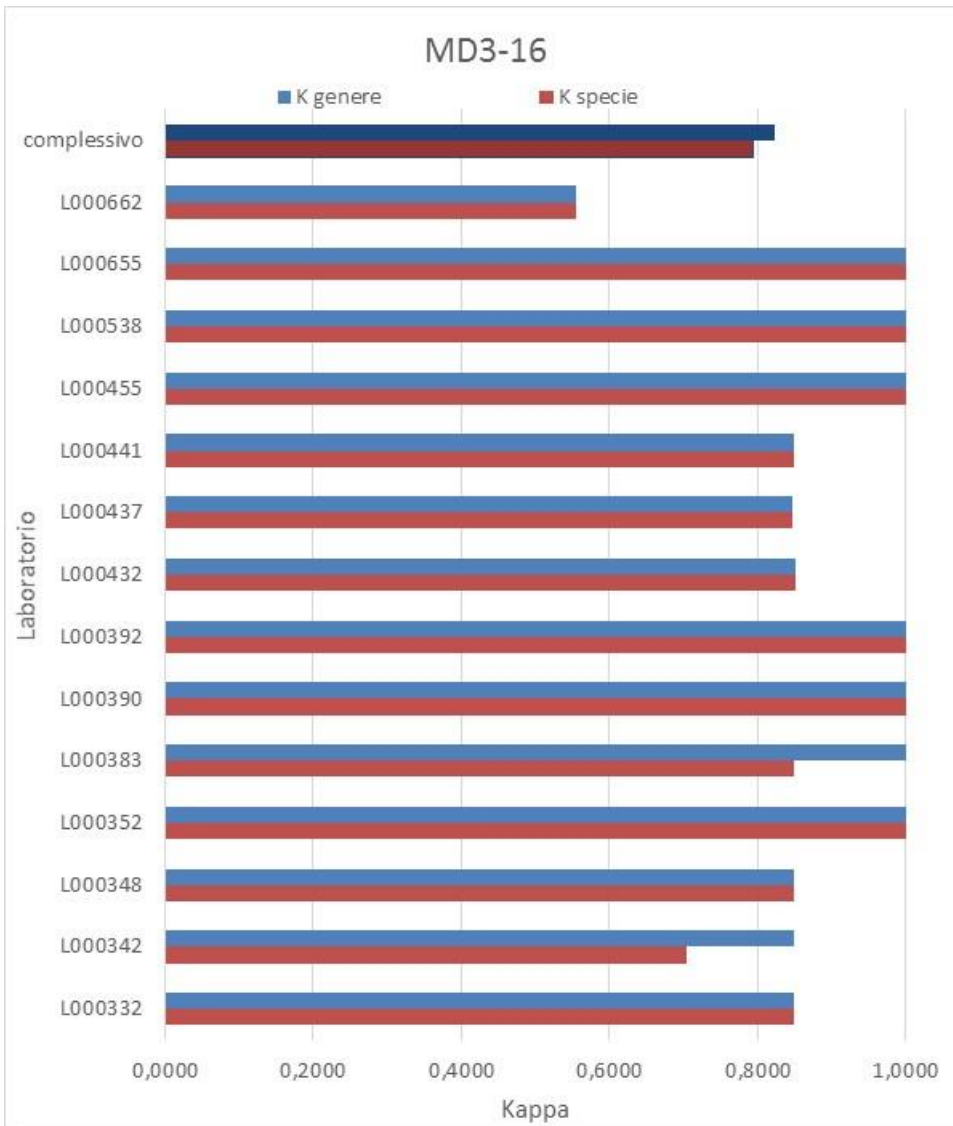


Figura 4: Confronto dei risultati di genere e specie in termini di concordanza

Confrontando i risultati ottenuti dai singoli laboratori con scala di Landis & Koch che fornisce un'indicazione per interpretare le performance di un laboratorio sulla base del valore K ottenuto, si può concludere che tutti i laboratori mostrano un'ottima concordanza con l'esito atteso in termini di **identificazione di genere** ad eccezione del laboratorio L000662 che presenta una moderata concordanza.

La concordanza tra tutti i partecipanti al circuito è ottima.

Tutti i valori di K calcolati sono significativi e quindi la concordanza non è dovuta al caso.

Per quel che riguarda l'**identificazione di specie** tutti i laboratori mostrano un'ottima concordanza con l'esito atteso ad eccezione del laboratorio L000662 che presenta una moderata concordanza e il laboratorio L000342 che ha evidenziato una buona concordanza con l'esito atteso.

La concordanza tra tutti i partecipanti al circuito è buona.

Tutti i valori di K calcolati sono significativi e quindi la concordanza non è dovuta al caso.

9.5 Sensibilità specificità e accuratezza

9.5.1 Identificazione di genere: sensibilità, specificità e accuratezza

Caratteristiche del circuito MD3-2016

valore rilevato	Valore assegnato	
	presente	assente
presente	67	10
assente	3	11
subtotale	70	21
totale	91	

Sensibilità	95.71% IC ₉₅ [87.98; 99.11]
Specificità	52.38% IC ₉₅ [29.78; 75.29]
Accuratezza	85.71% IC ₉₅ [76.81; 92.17]

Figura 5: Identificazione di genere: sensibilità, specificità e accuratezza

Sensibilità: è la probabilità che un campione positivo sia correttamente identificato.

La sensibilità nella tabella è data da: **67/70** dove **67** sono i campioni positivi correttamente identificati e **70** i campioni effettivamente positivi distribuiti per il circuito interlaboratorio (**3** sono quelli non correttamente identificati).

Specificità: è la probabilità che un campione negativo sia correttamente identificato.

La specificità nella tabella è data da: **11/21** dove **11** sono i campioni negativi correttamente identificati e **21** i campioni negativi distribuiti per il circuito interlaboratorio (**10** sono i campioni negativi riportati come positivi).

Accuratezza (percentuale di corretta classificazione): è il grado di corrispondenza tra il dato atteso e quello effettivamente riscontrato.

L'accuratezza nella tabella è data da: **78/91**: dove **78**, (67+11) sono rispettivamente i campioni positivi e negativi **correttamente** identificati riportati dai laboratori partecipanti e **91** sono le determinazioni **totali** eseguite.

In totale sono state effettuate 91 determinazioni batteriche di cui 70 positive e 21 negative.

Per quel che riguarda il genere, la sensibilità e la specificità del circuito sono state rispettivamente del 95.71% e del 52.38%; l'accuratezza del 85.71%.

9.5.2 Identificazione di specie: sensibilità, specificità e accuratezza

Caratteristiche del circuito MD3-2016			
valore rilevato	Valore assegnato		
		Presente	assente
presente	65	12	
assente	5	11	
subtotale	70	23	
totale	93		

Sensibilità	92.86% IC ₉₅ [84.11; 97.64]
Specificità	47.83% IC ₉₅ [26.81; 69.41]
Accuratezza	81.72% IC ₉₅ [72.35; 88.98]

Figura 6: Identificazione di specie: sensibilità, specificità e accuratezza

Sensibilità: è la probabilità che un campione positivo sia correttamente identificato

La sensibilità nella tabella è data da: **65/70** dove **65** sono i campioni positivi correttamente identificati e **70** i campioni effettivamente positivi distribuiti per il circuito interlaboratorio (**12** sono campioni positivi non correttamente identificati).

Specificità: è la probabilità che un campione negativo sia correttamente identificato.

La specificità nella tabella è data da: **11/23** dove **11** sono i campioni negativi correttamente identificati e **23** i campioni effettivamente negativi distribuiti per il circuito interlaboratorio (**12** sono i campioni negativi riportati come positivi).

Accuratezza (percentuale di corretta classificazione): è il grado di corrispondenza tra il dato atteso e quello effettivamente riscontrato.

L'accuratezza nella tabella è data da: **76/93**: dove **76**, (65+11) sono rispettivamente i campioni positivi e negativi **correttamente** identificati riportati dai laboratori partecipanti e **93** sono le determinazioni totali eseguite.

In totale sono state effettuate 93 determinazioni batteriche di cui 70 positive e 23 negative.

La sensibilità e la specificità del circuito sono state rispettivamente del 92.86% e del 47.83%; l'accuratezza del 81.72%.

10. Altre elaborazioni

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

10.1 Tempistiche spedizione campioni

Tre laboratori hanno ricevuto i campioni prova lo stesso giorno della spedizione; 10 laboratori hanno ricevuto i campioni entro 24 ore, un solo laboratorio li ha ricevuti entro 48 ore.

10.2 Tempistiche inizio/fine prova

1. Tutti i partecipanti hanno ricevuto i campioni prova entro i termini garantiti dallo spedizioniere (48 ore)
2. Nove laboratori hanno iniziato l'analisi lo stesso giorno del ricevimento; tre il giorno successivo e due laboratori entro le 48 ore.
3. L'intervallo di tempo per l'esecuzione delle prove, ricavato dalla data inizio e fine analisi indicata dai singoli partecipanti, risulta compreso tra 2 e 21 giorni. Alcuni laboratori hanno concluso le indagini in 48 ore con l'esame batteriologico classico; negli altri casi sono state effettuate anche ricerche colturali mirate (esempio ricerca *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp. e *Prothoteca* spp.) con un allungamento dei tempi di risposta (figura 6).

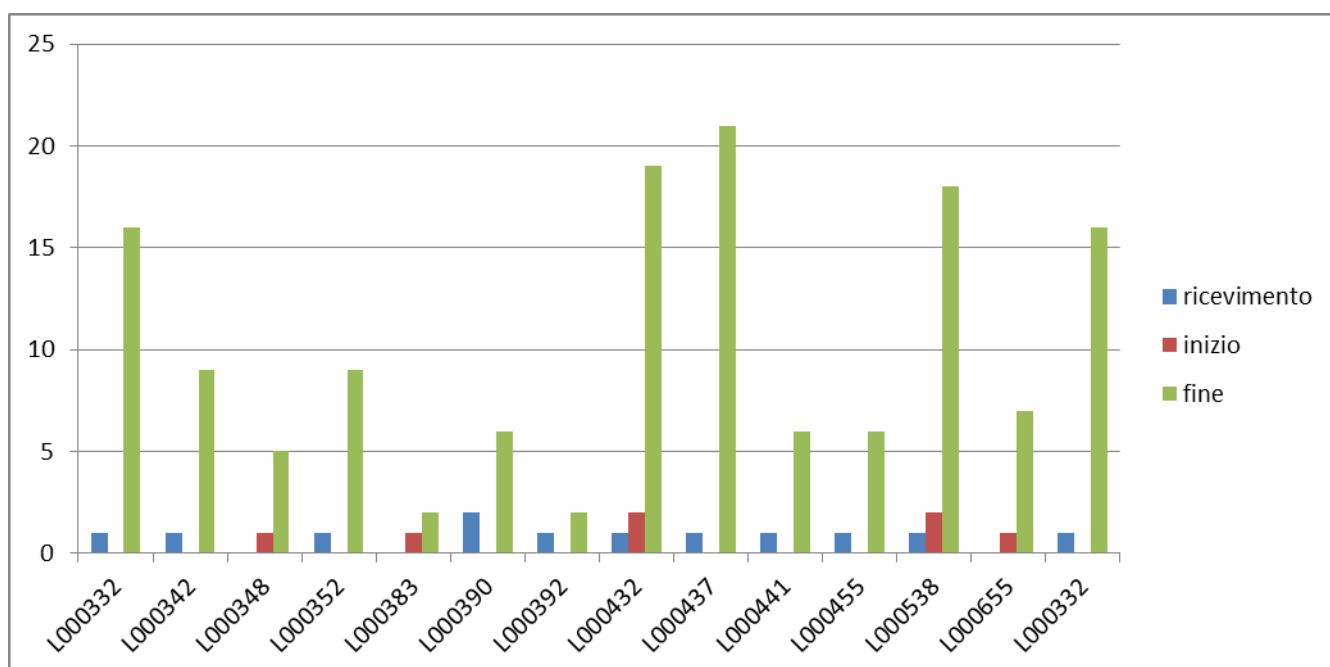


Figura 7: Tempistiche inizio-fine prova

10.3 Tipologia di analisi

1. La maggior parte dei partecipanti hanno utilizzato per l'esame batteriologico un terreno nutriente con sangue e un terreno selettivo/differenziale per enterobatteri, già in primo isolamento. Molti laboratori hanno inoltre utilizzato terreni selettivi (esempio: TKT, Bile-esculina, terreni selettivi per l'isolamento di stafilococchi e streptococchi, ecc.) e diverse condizioni di incubazione in atmosfera modificata (aerobiosi, microaerofilia e anaerobiosi). Tre laboratori non hanno fornito indicazioni riguardanti gli esami batteriologici effettuati.
2. In generale per l'identificazione batterica sono stati utilizzati test biochimici tradizionali quali: catalasi, ossidasi, coagulasi e colorazione secondo Gram; un laboratorio ha utilizzato un kit sierologico di agglutinazione rapida per streptococchi; sono stati inoltre utilizzati terreni selettivi e/o differenziali e sistemi di identificazione in micrometodo (API, VITEK₂) e effettuate identificazioni di specie con MALDI-TOF.

11. Discussione

11.1 Criticità segnalate dai laboratori partecipanti

Non ci sono pervenute segnalazioni di criticità né in fase di ricevimento campioni, né in corso di esecuzione delle prove.

11.2 Criticità rilevate dal laboratorio organizzatore

- a. Si è notato nella maggior parte dei casi, un approccio multi-analitico con esecuzione di più determinazioni (mirate e non) e l'utilizzo di numerosi terreni di coltura per ogni campione. Tale scelta, salvo rare eccezioni, ha determinato un sensibile allungamento nei tempi di risposta rispetto a quelli di solito previsti in caso di esame batteriologico.
- b. Si è anche evidenziata una disomogeneità nella denominazione dei microrganismi identificati e in alcuni casi il mancato rispetto delle regole tassonomiche.
- c. Alcuni laboratori hanno isolato microrganismi, che non sono stati impiegati per la preparazione dei campioni prova, rilevati talvolta anche in campioni sterili: ciò fa pensare a problemi di contaminazione durante la fase analitica, forse riconducibile all'utilizzo contemporaneamente o in successione di più terreni di coltura, sia in semina diretta, sia dopo arricchimento e/o all'allungamento dei tempi di incubazione/lettura.

12. Conclusioni

Nel complesso il Circuito MD3 2016 Esame microbiologico: isolamento e identificazione ha ottenuto risultati soddisfacenti dal punto di vista tecnico per l'identificazione di genere, con concordanza complessiva ottima tra risultati attesi ed effettivi; leggermente inferiori le performance per l'identificazione di specie che presenta una concordanza complessiva buona.

Note

1. I laboratori sono resi anonimi e identificati solo tramite codici alfa-numeric (Informativa ex art. 13 del D.Lgs. n. 196/30.6.2003 e s.m. e i. "Codice in materia di protezione dei dati personali"):

- i dati acquisiti sono utilizzati dall'Istituto per il Circuito Interlaboratorio AQUA e la gestione delle attività correlate;
- le attività comportanti il trattamento dei dati conferiti sono svolte per conseguire finalità a carattere istituzionale;
- il trattamento dei dati è effettuato sia con strumenti informatici che cartacei da parte dei servizi dell'Istituto;
- il titolare del trattamento è l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie in persona del Direttore Generale con sede in Legnaro (PD) – Viale dell'Università, 10 e il Responsabile della Struttura Complessa SCT3 è il dr Vicenzoni Gaddo
- l'interessato potrà esercitare i diritti di cui all'art. 7 del D.Lgs. n. 196/2003 rivolgendosi all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie con sede in Legnaro (PD) – Viale dell'Università, 10).

2. Tutti gli operatori dell'Organizzazione del circuito interlaboratorio AQUA MD 3-2016 sono tenuti alla riservatezza sia relativamente all'identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

Data report 06/10/2016

Dr.ssa Michela Corrò - SCT 3 - Laboratorio Diagnostica Clinica –Padova Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università n° 10, 35020 Legnaro (PD), (+39) 0498084294; Fax (+39) 0498830277
e-mail: mcorro@izsvenezie.it

----- Fine report -----