

Risultati Circuito MD3 2017. Schema Microbiologia Diagnostica

Circuito Interlaboratorio AQUA Schema Microbiologia Diagnostica

Esame microbiologico:
isolamento e identificazione

ANNO 2017

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Sommario

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.....	5
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 ottenuti per laboratorio partecipante.....	8
9.2 Elaborazioni statistiche.....	9
9.3 Dettaglio dei risultati (genere e specie).....	9
9.4 Sensibilità specificità ed esattezza	17
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 Considerazioni e criteri d’interpretazione dell’esame batteriologico.....	20
11.2 Criticità segnalate dai laboratori partecipanti.....	20
11.3 Criticità rilevate dal laboratorio organizzatore.....	20
12 Conclusioni.....	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.ssa Katia Qualtieri	e-mail kqualtieri@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 di contribuire alla valutazione delle performance dei laboratori.

Partecipano 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 MD3-2017 comprendeva **cinque** 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 i campioni “di campo” inviati, per l’esecuzione dell’esame batteriologico, al Laboratorio di analisi microbiologiche.

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

Ogni lotto di campioni-prova prodotto è stato sottoposto a prove di omogeneità e di stabilità. Tali prove sono state ripetute il giorno della spedizione e quotidianamente fino al sesto giorno 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 3 (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 fatta 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 equi zooepidemicus</i> (ceppo di campo)
tampone 2	<i>Streptococcus agalactiae</i> (ATCC 13813), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)
tampone 3	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (ceppo di campo)
tampone 4	<i>Pasteurella canis</i> (ceppo di campo)
tampone 5	Sterile

4. Indicazioni generali

4.1 Allestimento dei campioni prova

Preparazione delle sospensioni batteriche

Valutazione della crescita in piastra dei diversi ceppi e selezione delle combinazioni batteriche idonee a simulare caratteristiche e proporzioni batteriche di campioni reali.

Allestimento della matrice “tampone” con terreno di trasporto e conservazione a +2-+8°C.

Verifica di vitalità, omogeneità e stabilità della componente microbica nella matrice tampone, con prove di crescita effettuate al momento della preparazione dei campioni prova, il giorno della spedizione e successivamente fino al sesto giorno dall’invio.

4.2 Raccomandazioni

Conservare i campioni prova refrigerati fino al momento dell’utilizzo.

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.

Altre indicazioni 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

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

Eseguire 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'isolamento e l'identificazione delle specie microbiche 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	+/-

Per l'interpretazione dei valori di K di Cohen, si rimanda alla scala di *Landis & Koch* di seguito riportata (9.2).

8. Laboratori partecipanti

Hanno partecipato al circuito AQUA MD3 – 2017 Esame Microbiologico: isolamento e identificazione **quindici** laboratori.



Figura 1: Laboratori partecipanti

9. Risultati

9.1 Risultati attesi e risultati ottenuti per laboratorio partecipante

Matrice/ Lab.	Tampone 1 Utero cavallo	Tampone 2 Mammella capra	Tampone 3 Cervello lepre	Tampone 4 Polmone cane	Tampone 5 Congiuntiva gatto
Risultato atteso	<i>Streptococcus equi zooepidemicus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Pasteurella canis</i>	Sterile
L000332	Streptococcus equi	Staphylococcus aureus Streptococcus uberis	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella multocida	sterile
L000342	Streptococcus equi zooepidemicus	Staphylococcus coagulasi-positivo Streptococcus agalactiae	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella multocida	Negativo
L000348	Streptococcus equi subsp. zooepidemicus	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella multocida	campione negativo
L000352	Streptococcus equi zooepidermicus	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella canis + Staphylococcus epidermidis	negativo
L000383	Streptococcus equi subsp. zooepidemicus.	Staphylococcus spp. Coagulasi positivo. Streptococcus agalactiae.	Erysipelothrix rhusiopathiae.	Pasteurella canis.	Sterile
L000390	Streptococcus beta-emolitico Gruppo C	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella canis	Nessuna crescita batterica
L000392	Streptococcus equi zooepidemicus	Staphylococcus aureus Streptococcus gruppo B**	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella multocida	Negativo
L000432	Streptococcus gruppo C	Staphylococcus aureus Streptococcus gruppo B **	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella canis	Negativo
L000437	Streptococcus equi ssp zooepidemicus	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella canis	Negativo/Sterile
L000441	Streptococcus equi ssp zooepidemicus (gruppo C positivo)	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae (gruppo B)	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella multocida	Negativo
L000455	Streptococcus equi subsp. zooepidemicus	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella canis	Negativo
L000538	STREPTOCOCCUS EQUI *	STAPHYLOCOCCUS AUREUS STREPTOCOCCUS AGALACTIAE	ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE	PASTEURELLA MULTOCIDA	STERILE
L000655	Streptococcus equi ssp. zooepidemicus	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella canis	Assente crescita
L000726	Streptococcus equi spp zooepidemicus	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae	Erysipelothrix rhusiopathiae	Pasteurella canis	Sterile
L000727	STREPTOCOCCO GRUPPO C	STAPHYLOCOCCUS AUREUS STREPTOCOCCUS AGALACTIAE	ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE	PASTEURELLA CANIS	STERILE

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

9.2 Elaborazioni statistiche

L'analisi dei campioni del circuito AQUA MD3, fornisce una risposta di tipo qualitativo positivo/negativo; in caso di positività è riportata l'identificazione di genere e di specie.

Per conoscere la validità di un test, cioè la proporzione di campioni positivi e negativi e l'eventuale corretta identificazione di specie è stato utilizzato il Kappa di Cohen, che fornisce una misura dell'accordo (coefficient of agreement) tra le risposte qualitative o 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 suggerisce l'utilizzo della scala di Landis & Koch qui riportata:

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

Nel caso particolare del circuito AQUA MD 3, sono stati distribuiti **cinque** campioni prova, di cui uno prevedeva l'identificazione di due microrganismi. Nella valutazione statistica effettuata, la doppia risposta è stata tratta alla stregua di due campioni indipendenti con un microrganismo ciascuno e la valutazione dei risultati dei singoli laboratori è stata fatta considerando sei determinazioni di tipo qualitativo.

La valutazione della concordanza tra risultati ottenuti dai singoli laboratori e il risultato atteso è stata fatta distinguendo due livelli:

- a) Valutazione in termini di **genere** batterico
- b) Valutazione in termini di **specie** batterica

9.3 Dettaglio dei risultati (genere e specie)

Si riporta di seguito in dettaglio il calcolo della statistica K tra esito atteso e risultati dei singoli laboratori, espressi sia in termini di genere, sia in termini di specie batterica.

Si riportano inoltre i valori dei K complessivi di genere e di specie che valutano la concordanza nella risposta data tra tutti i laboratori partecipanti, rispetto a quella attesa.

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

9.3.1. Identificazione di genere per laboratorio

Laboratorio 1000332

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
71.43%	10.20%	0.6818	0.1215	5.61	0.0000

Laboratorio 1000342

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000348

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000352

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000383

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000390

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000392

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000432

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Laboratorio 1000437

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000441

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000455

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000538

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000655

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000726

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000727

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

9.3.2 Identificazione di genere K complessivo

There are 15 raters per subject:

Outcome	Kappa	Z	Prob>Z
1	1.0000	27.11	0.0000
2	1.0000	27.11	0.0000
3	0.9176	24.88	0.0000
4	1.0000	27.11	0.0000
5	0.5313	14.40	0.0000
6	1.0000	27.11	0.0000
7	0.3182	8.63	0.0000
8	-0.0096	-0.26	0.6028
9	-0.0096	-0.26	0.6028
99	0.9176	24.88	0.0000
combined	0.8721	62.18	0.0000

KAPPA COMPLESSIVO IC

	B=100	N=7
Kappa (95% CI) = 0.872	(0.695 - 0.976)	(BC)
	(0.674 - 0.976)	(P)
	(0.704 - 1.000)	(N)

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

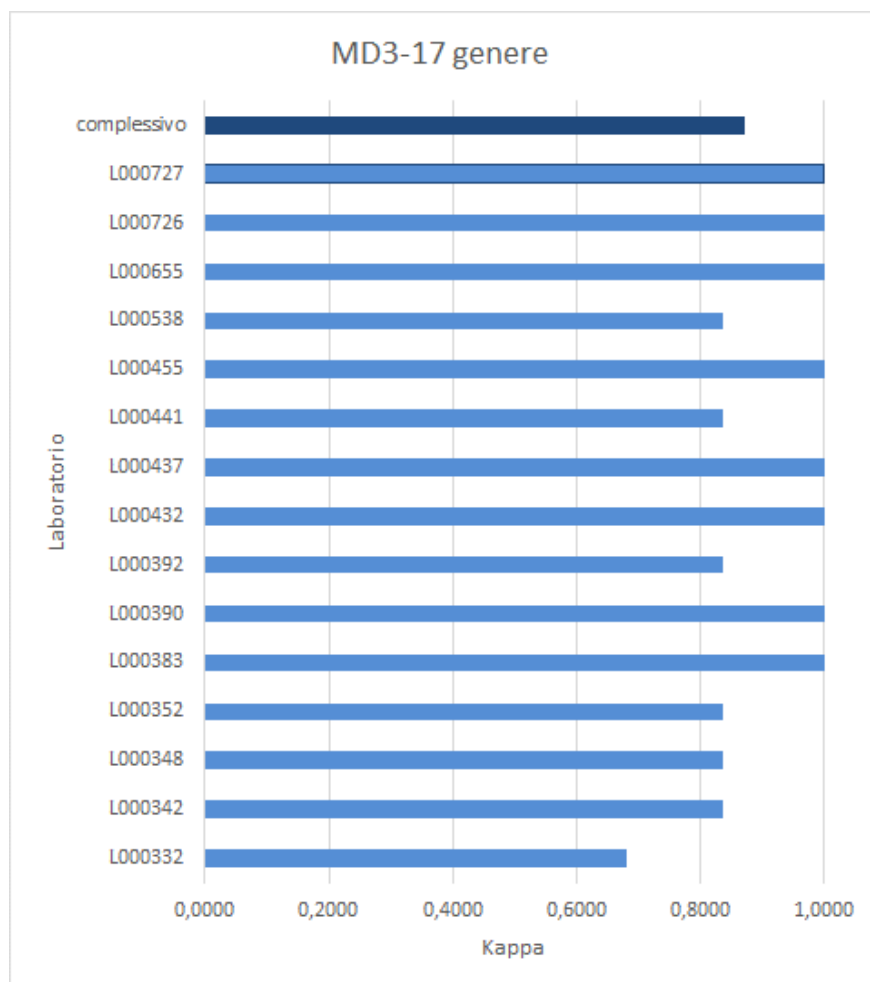


Figura 2: Concordanza nell'identificazione del genere batterico tra esito atteso e risultato del laboratorio partecipante (K singoli laboratori) e tra tutti i laboratori (K complessivo)

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

9.3.3. Identificazione di specie per laboratorio

Laboratorio 1000332

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
71.43%	10.20%	0.6818	0.1215	5.61	0.0000

Laboratorio 1000342

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
71.43%	10.20%	0.6818	0.1215	5.61	0.0000

Laboratorio 1000348

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000352

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000383

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000390

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000392

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000432

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Laboratorio 1000437

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000441

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000455

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000538

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

Laboratorio 1000655

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000726

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	14.29%	1.0000	0.1543	6.48	0.0000

Laboratorio 1000727

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.71%	12.24%	0.8372	0.1379	6.07	0.0000

9.3.4 Identificazione di specie K complessivo

There are 15 raters per subject:

Outcome	Kappa	Z	Prob>Z
1	0.7581	20.55	0.0000
2	0.8370	22.69	0.0000
3	0.9176	24.88	0.0000
4	1.0000	27.11	0.0000
5	0.5313	14.40	0.0000
6	1.0000	27.11	0.0000
7	0.3182	8.63	0.0000
8	-0.0096	-0.26	0.6028
9	-0.0096	-0.26	0.6028
10	0.0534	1.45	0.0739
11	0.1176	3.19	0.0007
99	0.9176	24.88	0.0000
combined	0.7782	58.71	0.0000

KAPPA COMPLESSIVO IC

	B=100	N=7

Kappa (95% CI) = 0.778	(0.652 - 0.906)	(BC)
	(0.614 - 0.883)	(P)
	(0.624 - 0.932)	(N)

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

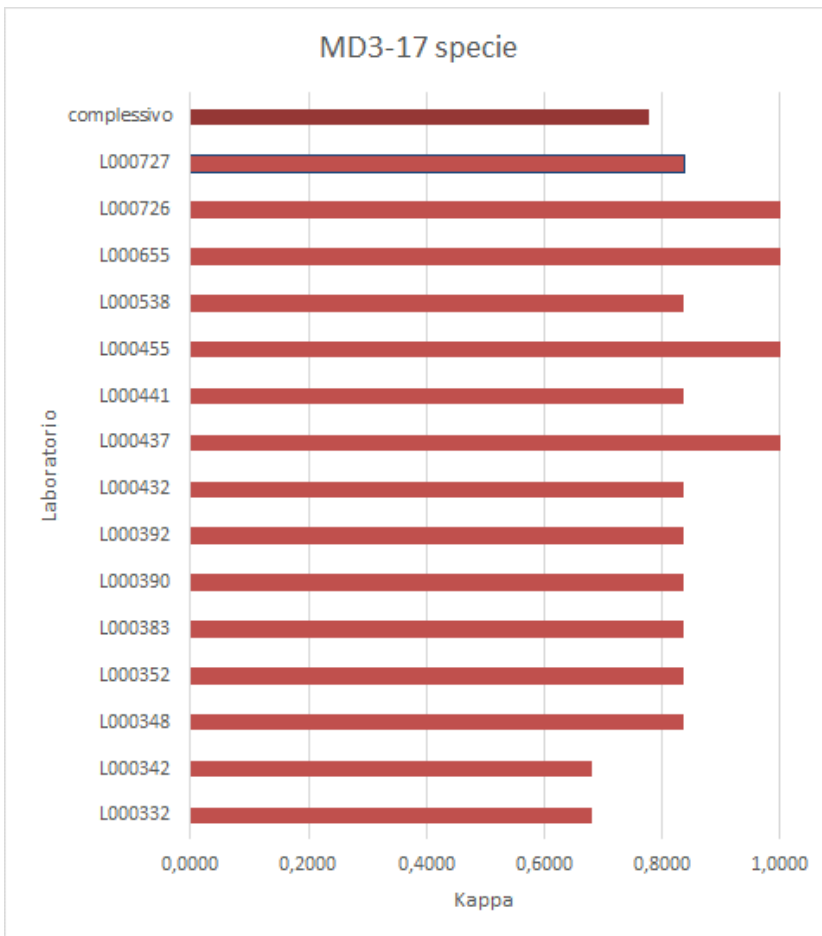


Figura 3: Concordanza nell'identificazione della specie batterica tra esito atteso e risultato del laboratorio partecipante (K singoli laboratori) e tra tutti i laboratori (K complessivo)

9.3.5 Riepilogo K singoli laboratori e K complessivo: confronto dei risultati di genere e specie

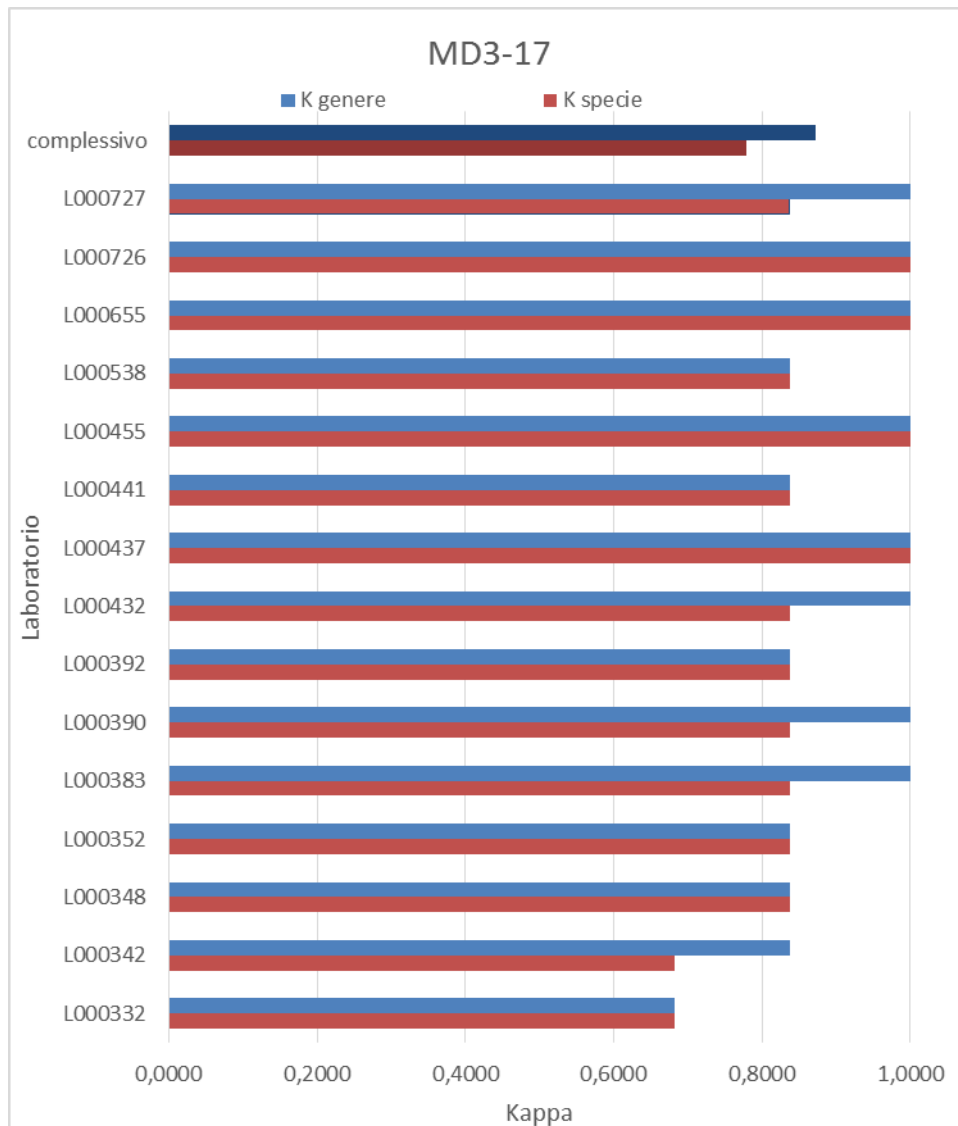


Figura 4: Confronto dei risultati di genere e specie in termini di concordanza

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 L000332 che presenta una buona concordanza.

La concordanza tra tutti i partecipanti al circuito è ottima (K complessivo di genere).

Tutti i valori di K calcolati sono significativi e quindi la concordanza di genere 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 dei laboratori L000332 e L000342 che presentano una buona concordanza con l'esito atteso.

La concordanza tra tutti i partecipanti al circuito è buona (K complessivo di specie).

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

9.4 Sensibilità specificità ed esattezza

9.4.1 Identificazione di genere: sensibilità, specificità ed esattezza

Caratteristiche del circuito MD3-2017			
valore rilevato	Valore assegnato		
		presente	assente
presente	135	17	
assente	10	27	
subtotale	145	44	
totale	189		

Sensibilità	93.10% IC ₉₅ [87.68; 96.64]
Specificità	61.36% IC ₉₅ [45.49; 75.64]
Esattezza	85.71% IC ₉₅ [79.90; 90.37]

Figura 5: Identificazione di genere: sensibilità, specificità ed esattezza

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

La sensibilità nella tabella è data da: **135/145** dove **135** sono i campioni positivi correttamente identificati e **145** i campioni effettivamente positivi distribuiti per il circuito (**10** sono quelli non correttamente identificati).

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

La specificità nella tabella è data da: **27/44** dove **27** sono i campioni negativi correttamente identificati e **44** i campioni negativi distribuiti per il circuito (**17** sono i campioni negativi riportati come positivi).

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

L'esattezza nella tabella è data da: **162/189**: dove **162**, (135+27) sono rispettivamente i campioni positivi e negativi **correttamente** identificati riportati dai laboratori partecipanti e **189** sono le determinazioni **totali** eseguite.

In totale sono state effettuate 189 determinazioni per quel che riguarda il genere batterico di cui 145 positive e 44 negative.

La sensibilità e la specificità del circuito rispetto al genere batterico, sono state rispettivamente del 93,10% e del 61,36%; l'esattezza del 85,71%.

9.4.2 Identificazione di specie: sensibilità, specificità ed esattezza

Caratteristiche del circuito MD3-2017

valore rilevato	Valore assegnato	
	presente	assente
presente	128	25
assente	17	26
subtotale	145	51
totale	196	

Sensibilità	88.27% IC ₉₅ [81.89; 93.02]
Specificità	50.98% IC ₉₅ [36.60; 65.25]
Esattezza	78.57% IC ₉₅ [72.16; 84.10]

Figura 6: Identificazione di specie: sensibilità, specificità ed esattezza

Sensibilità: è la probabilità che un campione positivo sia correttamente identificato
 La sensibilità nella tabella è data da: **128/145** dove **128** sono i campioni positivi correttamente identificati e **145** i campioni effettivamente positivi distribuiti per il circuito interlaboratorio (**17** sono campioni positivi non correttamente identificati).

Specificità: è la probabilità che un campione negativo sia correttamente identificato.
 La specificità nella tabella è data da: **26/51** dove **26** sono i campioni negativi correttamente identificati e **51** i campioni effettivamente negativi distribuiti per il circuito (**25** sono i campioni negativi riportati come positivi).

Esattezza (percentuale di corretta classificazione): è il grado di corrispondenza tra il dato atteso e quello effettivamente riscontrato.
 L'esattezza nella tabella è data da: **154/196**: dove **154**, (128+26) sono rispettivamente i campioni positivi e negativi **correttamente** identificati riportati dai laboratori partecipanti e **196** sono le determinazioni totali eseguite.

In totale sono state effettuate 196 determinazioni di specie di cui 145 positive e 51 negative.
 La sensibilità e la specificità del circuito rispetto alla specie batterica sono state rispettivamente del 88,27% e del 50,98%; e l'esattezza del 78,57%.

10. Altre elaborazioni

10.1 Tempistiche spedizione campioni

Nove laboratori hanno ricevuto i campioni prova lo stesso giorno della spedizione; due laboratori hanno ricevuto i campioni entro 24 ore, tre laboratori li hanno ricevuti entro 48 ore.

Tutti i partecipanti hanno ricevuto i campioni prova entro i termini garantiti dallo spedizioniere (48 ore)

10.2 Tempistiche inizio/fine prova

Dodici laboratori hanno iniziato l'analisi lo stesso giorno del ricevimento; un laboratorio il giorno successivo, un laboratorio quattro giorni dal ricevimento e un laboratorio il settimo giorno dal ricevimento.

L'intervallo di tempo per l'esecuzione delle prove, ricavato dalla data inizio e fine analisi indicata dai singoli partecipanti, risulta compreso tra 3 e 19 giorni.

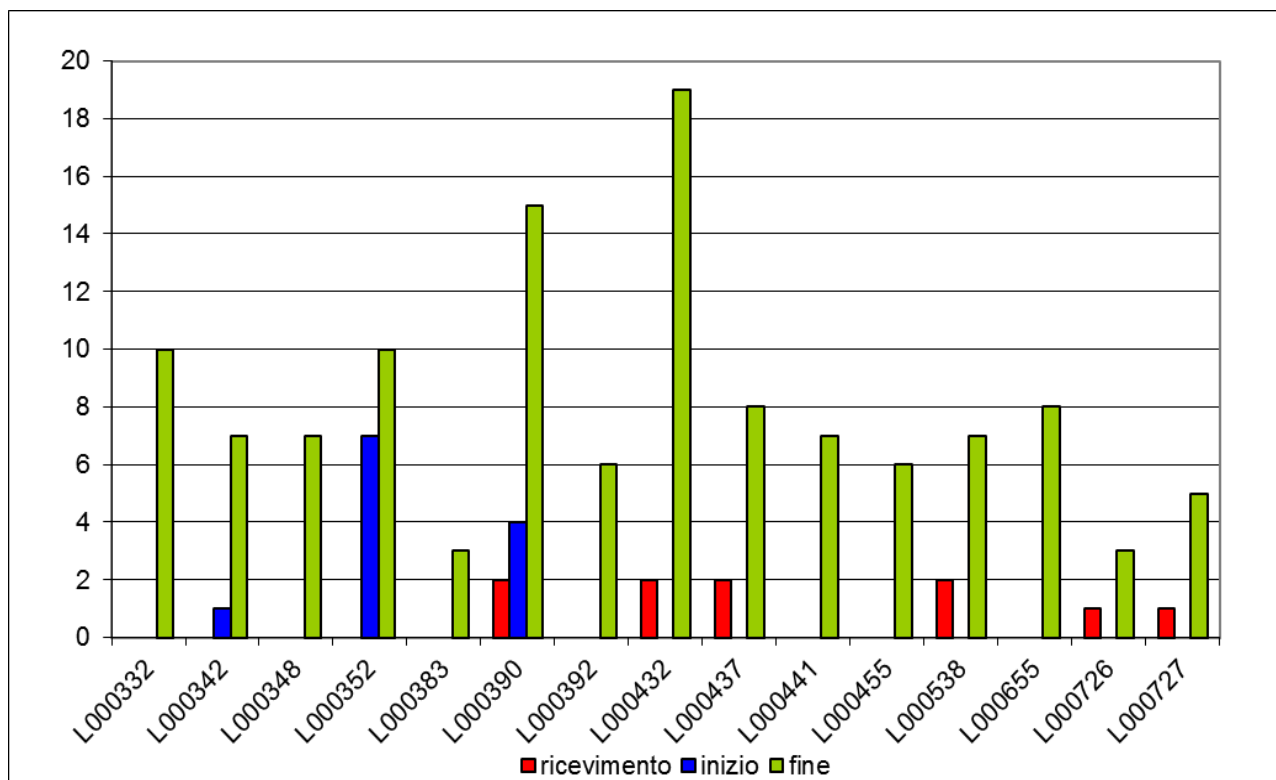


Figura 7: Tempistiche inizio-fine prova

10.3 Tipologia di analisi

La maggior parte dei partecipanti ha 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 (Bile-esculina, CEMO, Skirrow, SDA, 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.

In generale per l'identificazione batterica sono stati utilizzati test biochimici tradizionali quali: catalasi, ossidasi, coagulasi e colorazione secondo Gram; alcuni laboratori hanno utilizzato un kit sierologico di agglutinazione rapida per streptococchi e un laboratorio un kit analogo per lo stafilococco.

Per l'identificazione di specie sono stati utilizzati terreni selettivi e/o differenziali e sistemi di identificazione in micrometodo (API, VITEK₂) e MALDI-TOF.

11. Discussione

11.1 Considerazioni e criteri d'interpretazione dell'esame batteriologico

Sono state considerate conformi a livello di genere le identificazioni di *Streptococcus* spp. “gruppo C” e di *Staphylococcus* spp. “coagulasi positivo”, ma non a livello di specie in quanto a entrambi i gruppi possono essere ascritte più specie batteriche.

E' stata considerata conforme a livello di genere e di specie l'identificazione di *Streptococcus* spp. “gruppo B” al posto di *Streptococcus agalactiae*, in quanto unico rappresentante di tale gruppo.

E' stata considerata conforme l'identificazione a livello di specie sia di *Streptococcus equi* che di *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Tuttavia considerata l'importanza di *Streptococcus equi* subsp. *equi* come patogeno per l'equino e le implicazione di polizia veterinaria sarebbe stato opportuno un approfondimento dell'identificazione fino al livello di subspecie.

11.2 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.

11.3 Criticità rilevate dal laboratorio organizzatore

Si è notato nella maggior parte dei casi, un approccio multi-analitico con l'esecuzione di più determinazioni (mirate e non) e l'utilizzo di più terreni di coltura per ogni campione. Tale scelta, salvo rare eccezioni, potrebbe aver determinato un sensibile allungamento nei tempi di risposta rispetto a quelli di solito previsti in caso di esame batteriologico.

Alcuni laboratori hanno isolato microrganismi, che non sono stati impiegati per la preparazione dei campioni prova, rilevati talvolta anche in campioni sterili, riconducibili a problemi di contaminazione durante la fase analitica.

12 Conclusioni

Nel complesso il Circuito MD3 2017 Esame microbiologico: isolamento e identificazione, ha ottenuto risultati soddisfacenti dal punto di vista tecnico sia per l'identificazione di genere (concordanza complessiva ottima), sia per l'identificazione di specie (concordanza complessiva buona).

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

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. 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, sia 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.ssa Alda Natale
 - 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 2-2017 sono tenuti alla riservatezza sia relativamente all’identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

Data report 02/11//2017

*SCT 3 - Laboratorio Diagnostica Clinica –Padova
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Viale dell'Università n° 10, 35020 Legnaro (PD)*

Dr.ssa Michela Corrò

☎ (+39) 0498084294

Fax (+39) 0498084268

✉ e-mail: mcorro@izsvenezie.it

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