



**Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
della Lombardia e dell'Emilia – Romagna “Bruno Ubertini”  
Centro di Referenza Nazionale per la Leptospirosi**

## **CIRCUITO INTERLABORATORIO**

### **PROVA SIEROLOGICA DI AGGLUTINAZIONE MICROSCOPICA (MAT) PER LA RICERCA DI ANTICORPI ANTI – *LEPTOSPIRA***

**DISTRIBUZIONE 2019**

## **REPORT FINALE**

#### **COORDINATORE**

Mario D’Incau

*Reparto Tecnologie Biologiche Applicate – Laboratorio Batteriologia Specializzata*

Email            mario.dincau@izsler.it  
Telefoni        030 2290268, 030 2290323  
Fax              030 2290623

#### **ESPERTO STATISTICO**

Veronica Cappa

*Sorveglianza Epidemiologica*

#### **COLLABORATORI TECNICI**

Marcello Fin

Eufrasia Peroni

Cosima Tomasoni

*Reparto Tecnologie Biologiche Applicate – Laboratorio Batteriologia Specializzata*

## INDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUZIONE</b>	<b>2</b>
1.1.	GESTIONE ORGANIZZATIVA E PIANIFICAZIONE	2
1.2	PARTECIPANTI	2
1.3	RISERVATEZZA	3
<b>2</b>	<b>MATERIALI E METODI</b>	<b>3</b>
2.1.	TIPOLOGIA DEI CAMPIONI	3
2.2.	PREPARAZIONE	3
2.3.	DISTRIBUZIONE	4
<b>3.</b>	<b>ANALISI STATISTICA</b>	<b>4</b>
3.1.	PROVE DI TIPO QUALITATIVO	4
3.2.	PROVE DI TIPO QUANTITATIVO	4
3.3	PARAMETRI DI ACCETTABILITÀ DEI RISULTATI	4
<b>4.</b>	<b>PRESENTAZIONE DEI RISULTATI</b>	<b>5</b>
4.1	METODICHE IMPIEGATE	5
4.2	SISTEMI DI SAGGIO (ANTIGENI)	5
4.3.	ESPRESSIONE DEI RISULTATI	5
<b>5.</b>	<b>RISULTATI</b>	<b>5</b>
5.1	RIEPILOGO DEGLI ESITI	6
5.2	VARIAZIONI NEI TITOLI POSITIVI	6
<b>6.</b>	<b>VALUTAZIONE STATISTICA</b>	<b>7</b>
6.1	ESITO QUALITATIVO – IDENTIFICAZIONE DI SIEROGRUPPO	7
6.1.1	<i>CORRETTEZZA DELL'ESITO</i>	7
6.1.2	<i>RIPETIBILITÀ E RIPRODUCIBILITÀ DEL METODO</i>	7
6.2	ESITO QUANTITATIVO – TITOLO SIEROLOGICO	8
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONI</b>	<b>9</b>
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>10</b>
<b>9.</b>	<b>ALLEGATI</b>	<b>11</b>

## 1. INTRODUZIONE

Il presente report descrive i risultati relativi al circuito di prove interlaboratorio, organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per la Leptosirosi (CRNL), inerente la prova sierologica di agglutinazione microscopica (MAT) per la ricerca di anticorpi anti – *Leptospira*.

La partecipazione al circuito è riservata ai laboratori degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS) che eseguono la prova e ai quali viene richiesto di misurare il titolo anticorpale anti – *Leptospira*, secondo le rispettive procedure, su un gruppo di campioni di prova.

L'obiettivo generale del circuito è quello di fornire ai partecipanti informazioni sullo standard di qualità di esecuzione della prova nell'ottica di un miglioramento continuo delle proprie prestazioni. In particolare ciò avviene attraverso la valutazione della capacità di:

- identificare correttamente i campioni positivi o negativi;
- identificare correttamente il/i sierogruppo/i oggetto della positività (prova di tipo qualitativo) e fornire i relativi titoli anticorpali (prova di tipo quantitativo).

### 1.1. GESTIONE ORGANIZZATIVA E PIANIFICAZIONE

La partecipazione al circuito viene regolamentata dall'iscrizione mediante un software gestionale al quale i partecipanti accedono, via web, utilizzando le credenziali personali. Tale software costituisce inoltre il supporto per:

- assegnazione automatica, a ciascun laboratorio partecipante, di un codice alfa numerico;
- pubblicazione del protocollo operativo del circuito;
- numerazione automatica, differenziata per laboratorio, dei campioni;
- invio dell'email informativa dell'invio dei campioni;
- inserimento esiti delle prove;
- pubblicazione report finale del circuito.

Il software consente inoltre di visualizzare le date di scadenza, previste dal calendario del circuito, di cui di seguito vengono fornite le specifiche:

SCADENZA	AZIONE
10/02/2020	Termine ultimo iscrizioni
24/02/2020	Spedizione campioni
06/04/2020	Termine inserimento esiti prove

### 1.2 PARTECIPANTI

I laboratori degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali che hanno aderito al circuito sono stati:

- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana (Roma)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (Torino)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata (Foggia)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna (Sassari)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia (Palermo)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (Perugia)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (Padova)

L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia – Romagna, che ha organizzato il circuito, vi ha anche preso parte in qualità di ottavo partecipante.

### 1.3 RISERVATEZZA

I laboratori sono resi anonimi e identificati mediante un codice utilizzato per tutte le comunicazioni e per la pubblicazione del report finale. I dati, trattati in forma confidenziale e riservata, sia con strumenti informatici che su supporto cartaceo, vengono utilizzati dall'organizzatore del circuito esclusivamente per l'analisi e la valutazione dei risultati.

Il titolare del trattamento dei dati è l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia – Romagna “Bruno Ubertini” con sede in Brescia, via Bianchi n. 9.

## 2. MATERIALI E METODI

### 2.1. TIPOLOGIA DEI CAMPIONI

A ciascun partecipante sono stati inviati 5 campioni di siero di sangue liofilizzati, di cui 3 positivi (verso un solo sierogruppo) e due negativi (derivato da suino SPF).

Le caratteristiche dei campioni, con gli esiti di riferimento, vengono riportati nella tabella 1.

**TABELLA 1 – CARATTERISTICHE DEI CAMPIONI UTILIZZATI**

CAMPIONE N.	ESITI DI RIFERIMENTO	
	SIEROGRUPPO	TITOLO
1	<i>Campione negativo</i>	//
2	<i>Campione negativo</i>	//
3	Positivo sierogruppo Canicola	1/800
4	Positivo sierogruppo Pomona	1/200
5	Positivo sierogruppo Sejroe	1/6400 <sup>(A)</sup>
		1/200 <sup>(B)</sup>
		1/400 <sup>(C)</sup>

<sup>(A)</sup> Titolo nei confronti della sierovariante Hardjo

<sup>(B)</sup> Titolo nei confronti della sierovariante Saxkoebing

<sup>(C)</sup> Titolo nei confronti della sierovariante Sejroe

### 2.2. PREPARAZIONE

I sieri sono prodotti dal CRNL con l'impiego dei ceppi di *Leptospira* indicati nella tabella 2 e diluiti in modo da realizzare, per ciascuno di essi, il titolo desiderato. Ogni campione è stato suddiviso in aliquote da 0,5 ml e liofilizzato.

**TABELLA 2 – CEPPI DI *LEPTOSPIRA* IMPIEGATI PER LA PRODUZIONE DEI SIERI DISTRIBUITI**

CAMPIONE N.	SIEROGRUPPO	SIEROVARIANTE	CEPPO
3	Canicola	Canicola	Alarik
4	Pomona	Pomona	Pomona
5	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno

Mediante prove eseguite, su due aliquote per ogni campione positivo, dallo stesso operatore, in tempi differenziati e con diverse preparazioni di antigeni (con controllo, volta per volta, della relativa concentrazione per conta microscopica) è stata valutata l'omogeneità: l'esito è stato favorevole.

Non è stata valutata la stabilità viste le caratteristiche, di materiali di riferimento, dei sieri.

I campioni inviati a ciascun laboratorio sono stati identificati ognuno con un codice numerico composto dal codice del laboratorio (a due o tre cifre) e da un codice a tre cifre, generato casualmente, riferito al singolo campione (tabella 3).

**TABELLA 3 – CODIFICA DEI CAMPIONI**

CAMPIONE N.	IDENTIFICATIVI LABORATORI (L) E CAMPIONI								
	L16	L20	L72	L73	L88	L270	L284	L292	
1	390	185	140	253	164	203	443	157	
2	556	476	221	324	558	342	797	262	
3	558	539	367	563	599	448	898	307	
4	789	796	486	767	677	619	920	366	
5	854	819	691	974	818	767	992	574	

### 2.3. DISTRIBUZIONE

I campioni sono stati inviati in condizioni di refrigerazione ( $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) mediante corriere. A tutti i laboratori partecipanti è stato richiesto di comunicare mediante posta elettronica l'eventuale mancata consegna dei campioni entro cinque giorni dalla spedizione.

### 3. ANALISI STATISTICA

La valutazione dei risultati viene eseguita dalla struttura “Sorveglianza Epidemiologica” dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia – Romagna, in collaborazione con il CRNL.

#### 3.1. PROVE DI TIPO QUALITATIVO

I risultati di ciascun laboratorio sono stati classificati, in base al sierogruppo individuato, come corretti o errati rispetto agli esiti di riferimento. La ripetibilità e la riproducibilità del dato qualitativo sono state espresse mediante il calcolo degli indici di concordanza.

#### 3.2. PROVE DI TIPO QUANTITATIVO

Per una valutazione complessiva degli esiti ottenuti dai laboratori partecipanti, sono state evidenziate le distribuzioni di frequenza dei titoli e calcolata la mediana: è stato evidenziato, per ogni sierovariante, l'intervallo dei titoli comprendente una diluizione sotto e una sopra il titolo coincidente con la mediana o due diluizioni sotto e due sopra il valore di mediana se questo risulta intermedio tra due titoli.

#### 3.3 PARAMETRI DI ACCETTABILITÀ DEI RISULTATI

Nel caso dei campioni positivi per un determinato sierogruppo, un esito positivo viene considerato conforme all'atteso quando viene correttamente identificato tale sierogruppo. A tal fine devono verificarsi entrambe le seguenti condizioni:

- la sierovariante utilizzata (o, qualora se ne utilizzi più di una, almeno una), appartenente al sierogruppo, restituisce un esito positivo;
- il titolo anticorpale che viene determinato è più elevato di tutti gli eventuali altri titoli rilevati per le sierovarianti degli altri sierogruppi.

Per una valutazione complessiva del circuito vengono inoltre confrontati tutti gli esiti ottenuti, per ciascun campione, dai singoli partecipanti, con i risultati attesi. Il numero totale di tali esiti è variabile in funzione del numero di antigeni impiegati (vedi paragrafo 4.2).

## 4. PRESENTAZIONE DEI RISULTATI

### 4.1 METODICHE IMPIEGATE

La metodica seguita è la prova sierologica di agglutinazione microscopica (MAT) per la ricerca di anticorpi anti – *Leptospira* attuata secondo le linee guida OIE (2018).

I campioni sono stati analizzati da ogni laboratorio seguendo il proprio metodo interno. La titolazione dei campioni positivi è stata eseguita, secondo quanto indicato dall'organizzatore del circuito, mediante diluizioni seriali in base 2 con una diluizione iniziale pari a 1/100 (diluizione 1/50 del campione che raddoppia dopo l'aggiunta di pari volume di antigene).

### 4.2 SISTEMI DI SAGGIO (ANTIGENI)

Tutti i partecipanti hanno valutato la positività dei sieri nei confronti di otto sierogruppi: Australis, Ballum, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Sejroe, Tarassovi.

Per ciascun sierogruppo ogni partecipante ha impiegato una sola sierovariante; eccezioni sono da registrare per i seguenti sierogruppi:

- Icterohaemorrhagiae: tutti i laboratori hanno utilizzato la sierovariante Copenhageni che, in cinque casi (laboratori 16, 72, 73, 88, 292), è stata affiancata dalla sierovariante Icterohaemorrhagiae;
- Sejroe: tutti i laboratori hanno utilizzato la sierovariante Hardjo affiancata in un caso (laboratorio 292) dalla sierovariante Saxkoebing e in un caso (laboratorio 72) dalle sierovarianti Saxkoebing e Sejroe.

Il dettaglio dei sistemi di saggio impiegati dai laboratori partecipanti è riportato nella tabella riassuntiva compresa nel paragrafo “9. Allegati”.

### 4.3 ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Per ogni campione è stato richiesto di compilare, per ogni sierovariante utilizzata:

- gli esiti (“positivo” o “negativo”);
- i titoli dei campioni positivi;
- la descrizione del ceppo impiegato come sistema di saggio e la sua origine.

Il titolo finale è definito come il reciproco della più alta diluizione del siero con agglutinazione, nei confronti di una determinata sierovariante, maggiore o uguale al 50%. La positività è considerata tale quando il titolo risulta maggiore o uguale a 100: il *range* di positività è compreso tra 100 e 6400.

## 5. RISULTATI

I risultati sono stati inseriti dai partecipanti direttamente nel software dedicato, utilizzando le credenziali di accesso fornite in fase di registrazione.

Gli esiti sono presentati nella tabella 4 che riporta i titoli rilevati dai partecipanti per ciascun campione. Nella compilazione della tabella sono stati rispettati i seguenti criteri:

- i serovar per i quali sono stati ottenuti solamente esiti negativi non sono tabulati;
- quando, per un campione e per un determinato serovar, esiste almeno un esito positivo, vengono tabulati gli esiti di tutti i laboratori;
- le caselle vuote indicano che il relativo serovar non viene impiegato da un determinato laboratorio;
- gli esiti non conformi all'atteso sono evidenziati in carattere rosso grassetto.

La tabella 4 riepiloga inoltre:

- il numero di sierogruppi correttamente identificati;

- il numero di esiti falsi negativi: esiti che restituiscono un titolo negativo per i sierogruppi verso i quali i campioni devono risultare positivi (sierogruppi omologhi);
- il numero di esiti falsi positivi: esiti positivi, per qualsiasi sierogruppo, per i campioni 1 e 2 (negativi);
- il numero di esiti con un titolo eterologo: esiti positivi verso sierogruppi diversi da quelli omologhi.

**TABELLA 4 – TITOLI RILEVATI PER SINGOLO CAMPIONE E RIEPILOGO DEGLI ESITI**

CP	SIEROGRUPPO	SIEROVARIANTE	L16	L20	L72	L73	L88	L270	L284	L292	
3	Canicola	Canicola	<100	400	400	400	400	800	400	400	
	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	<100		100	<100	<100			<100	
4	Pomona	Pomona	<100	100	400	100	400	200	100	400	
	Canicola	Canicola	800	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	
5	Sejroe	Hardjo	1600	3200	6400	3200	3200	6400	3200	3200	
		Saxkoebing			200					200	
		Sejroe			200						
			<b>L16</b>	<b>L20</b>	<b>L72</b>	<b>L73</b>	<b>L88</b>	<b>L270</b>	<b>L284</b>	<b>L292</b>	
<b>Sierogruppi corretti (cp positivi)</b>			1	3	3	3	3	3	3	3	
<b>Falsi negativi</b>			2								
<b>Falsi positivi (cp negativi)</b>											
<b>Titoli eterologhi</b>			1		1						

### 5.1 RIEPILOGO DEGLI ESITI

Sette laboratori hanno fornito un esito conforme per tutti tre i campioni positivi.

Il laboratorio 16 ha fornito due esiti falsi negativi per i campioni 3 e 4; per quest'ultimo, positivo per il sierogruppo Pomona, ha fornito un titolo di 1/800 per il sierogruppo Canicola.

Il laboratorio 72 ha fornito, per il campione 3, un titolo basso (1/100) per il sierogruppo Icterohaemorrhagiae ma, nel contempo, ha riportato correttamente la positività per il sierogruppo Canicola.

Tutti i laboratori hanno fornito esiti conformi per i campioni negativi.

### 5.2 VARIAZIONI NEI TITOLI POSITIVI

Le variazioni nei titoli positivi riportati dai laboratori partecipanti sono indicate nella tabella 5. Sono state considerate le sole sierovarianti per le quali sono stati riportati almeno cinque esiti positivi.

**TABELLA 5 – VARIAZIONI NEI TITOLI POSITIVI**

CP	SIEROVARIANTE	TOTALE	N. LABORATORI RIPORTANTI IL TITOLO:						
			100	200	400	800	1600	3200	6400
3	Canicola	7			6	1			
4	Pomona	7	3	1	3				
5	Hardjo	8					1	5	2

## 6. VALUTAZIONE STATISTICA

### 6.1 ESITO QUALITATIVO – IDENTIFICAZIONE DI SIEROGRUPPO

#### 6.1.1 Correttezza dell'esito

I risultati di ciascun laboratorio sono stati classificati come corretti o errati, rispetto all'esito di riferimento, seguendo i criteri indicati al paragrafo 3.3. Il relativo riepilogo, con il numero di laboratori, per ciascun campione, che hanno fornito esiti corretti/errati, è riportato nella tabella 6.

**TABELLA 6 – RIEPILOGO NUMERO TOTALE ESITI CORRETTI/ERRATI**

CP	SIEROGRUPPO	CORRETTI	ERRATI	% CORRETTI	CI 95%(*)
1	<i>Campione negativo</i>	8	0	100,00	63,06-100,00
2	<i>Campione negativo</i>	8	0	100,00	63,06-100,00
3	Canicola	7	1	87,50	47,35-99,68
4	Pomona	7	1	87,50	47,35-99,68
5	Sejroe	8	0	100,00	63,06-100,00
<b>TOTALE</b>		38	2	95,00	83,08-99,39

(\*) *Gli intervalli di confidenza sono stati calcolati con il metodo esatto*

#### 6.1.2 Ripetibilità e riproducibilità del metodo

La ripetibilità e la riproducibilità del metodo del dato qualitativo sono state espresse mediante il calcolo degli indici di concordanza.

L'indice di concordanza utilizzato è la K di Cohen (Cohen, 1960), che rappresenta una semplificazione dell'indice K di Fleiss, in cui il confronto avviene fra soli due laboratori per volta. I risultati di ciascun laboratorio sono confrontati con i valori attesi. In tal modo è stato possibile calcolare un valore di K per ciascun laboratorio in modo da valutare la concordanza tra i risultati di quel laboratorio e quelli del laboratorio di riferimento.

La tabella 7 riporta, per ciascun laboratorio, i valori della K di Cohen e la relativa accuratezza.

**TABELLA 7 – INDICE DI CONCORDANZA TRA CIASCUN LABORATORIO E IL LABORATORIO DI RIFERIMENTO**

LABORATORIO	NUMERO ESITI	K DI COHEN	95% CI	ACCURATEZZA
<b>L16</b>	45	0,366	- 0,19 - 0,93	42/45
<b>L20</b>	40	1,000	0,673 – 1,000	40/40
<b>L72</b>	55	0,899	0,700 – 1,000	54/55
<b>L73</b>	45	1,000	0,701 – 1,000	45/45
<b>L88</b>	45	1,000	0,701 – 1,000	45/45
<b>L270</b>	40	1,000	0,673 – 1,000	40/40
<b>L284</b>	40	1,000	0,673 – 1,000	40/40
<b>L292</b>	50	1,000	0,725 – 1,000	50/50

Per ottenere una valutazione complessiva del circuito interlaboratorio è stato calcolato l'indice K di Cohen per confrontare i valori ottenuti da tutti i laboratori con i risultati attesi per ciascun campione.

Il raggruppamento di tutti i risultati, ottenuti dai diversi laboratori, in un unico insieme è stato possibile solo in seguito alla conferma dell'ipotesi di non – eterogeneità tra i laboratori partecipanti. Da un punto di vista statistico, tale non – eterogeneità può essere verificata tramite un test  $X^2$  per l'omogeneità (o un test esatto di Fisher nel caso di basse frequenze) che verifica che le frequenze di positivi/negativi non siano troppo



dissimili nei diversi laboratori al fine di poter raggruppare tutte le osservazioni. Poiché i dati sono risultati omogenei ( $p = 0,99$ ) è stata calcolata la K di Cohen globale.

Nella tabella 8 sono evidenziati i valori della K di Cohen con il relativo  $p$  – value per i campioni in accordo con la tabella 2 ( $n = 40$ ).

**TABELLA 8 – VALORI DEGLI INDICI DI CONCORDANZA**

INDICE	VALORE
K Cohen	0,898 (0,760 –1,000)
$p$ – value	<0,0001

## 6.2 ESITO QUANTITATIVO – TITOLO SIEROLOGICO

Per avere una visione complessiva degli esiti delle titolazioni sono state messe in evidenza (tabella 9) le distribuzioni di frequenza dei titoli ottenuti dai laboratori partecipanti. È stata calcolata inoltre la mediana: per ogni sierovariante è stato evidenziato l'intervallo dei titoli comprendente una diluizione sotto e una sopra il titolo coincidente con la mediana o due diluizioni sotto e due sopra il valore di mediana se intermedio tra due titoli. I risultati ottenuti al di fuori di questo intervallo sono considerati “insolitamente bassi” o “insolitamente alti”.

**TABELLA 9 – DISTRIBUZIONI DI FREQUENZA DEI TITOLI SIEROLOGICI**

CP	SIEROVARIANTE	TOTALE	N. LABORATORI RIPORTANTI IL TITOLO:						MEDIANA	
			100	200	400	800	1600	3200		6400
3	Canicola	7			6	1				400
4	Pomona	7	3	1	3					200
5	Hardjo	8					1	5	2	3200

## 7. CONCLUSIONI

Da un visione complessiva dei risultati forniti dai laboratori partecipanti, si può osservare che un solo laboratorio ha fornito due esiti falsi negativi (per i campioni 3 e 4, positivi rispettivamente per i sierogruppi Canicola e Pomona). Nessun laboratorio ha riportato esiti falsi positivi.

Il riscontro di titoli eterologhi è stato praticamente nullo: un solo laboratorio ha fornito, per il campione 3 (positivo per il sierogruppo Canicola) un esito positivo per il sierogruppo Icterohaemorrhagiae, peraltro con un titolo basso (1/100). Sempre per il campione 3 un laboratorio ha fornito un esito di positività non corretto riportando un titolo di 1/800 per il sierogruppo Pomona.

Considerando l'aspetto qualitativo della prova (identificazione di sierogruppo) la performance complessiva ottenuta dai laboratori partecipanti, valutata mediante il calcolo della K di Cohen, indica una perfetta concordanza nell'identificare il medesimo esito. Inoltre, il  $p$  – value rifiuta l'ipotesi nulla secondo cui la concordanza è dovuta al caso. Per tale ragione, esiste una concordanza statisticamente significativa tra i laboratori.

Secondo la classificazione proposta da Landis e Koch (1977), per l'interpretazione del valore della K di Cohen, è possibile, considerando i singoli laboratori, formulare per sette partecipanti una valutazione di concordanza perfetta con gli esiti di riferimento, mentre per un laboratorio risulta un valore di concordanza debole.

Per quanto riguarda infine l'aspetto quantitativo, i titoli forniti sono risultati pressoché omogenei con scostamenti che rientrano nel *range* di accettabilità per questa prova. Non sono stati riscontrati titoli “insolitamente bassi” o “insolitamente alti”.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. Office International des Épizooties (2018) Leptospirosis. In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, 8th ed. World Organisation for Animal Health, Paris
2. Cohen, J. (1960) A coefficient of agreement for nominal scales. Educational and Psychological Measurement 20: 37-46
3. Landis J., Koch G. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 33: 159-74

## 9. ALLEGATI

### RIEPILOGO DEI CEPPI UTILIZZATI COME SISTEMI DI SAGGIO DAI LABORATORI PARTECIPANTI

Sierogruppo	Sierovariante	Ceppo	N. laboratori
Australis	Bratislava	Riccio 2	8
Ballum	Ballum	Mus 127	8
Canicola	Canicola	Alarik	8
Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V	8
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Wijnberg	8
	Icterohaemorrhagiae	Bianchi	3
		RGA	2
Pomona	Pomona	Pomona	8
Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno	8
	Saxkoebing	Mus 24	2
	Sejroe	M84	1
Tarassovi	Tarassovi	Mitis Johnson	8