



**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 2015**

## **REPORT FINALE**

#### **COORDINATORE**

Mario D’Incau

*Reparto Batteriologia*

Email            mario.dincau@izsler.it

Telefoni        030 2290323, 030 2290570

Fax              030 2290570

#### **ESPERTO STATISTICO**

Dominga Avisani

*Reparto Sorveglianza Epidemiologica Lombardia*

#### **COLLABORATORI TECNICI**

Arturo Scalvenzi

Marcello Fin

*Reparto Batteriologia*

## INDICE

<b>1 INTRODUZIONE</b>	<b>2</b>
1.1. GESTIONE ORGANIZZATIVA E PIANIFICAZIONE	2
1.2. PARTECIPANTI	2
1.3. RISERVATEZZA	3
<b>2 MATERIALI E METODI</b>	<b>3</b>
2.1. TIPOLOGIA DEI CAMPIONI	3
2.2. PREPARAZIONE	3
2.3. DISTRIBUZIONE	4
<b>3. 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. 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. RISULTATI</b>	<b>5</b>
5.1. RIEPILOGO DEGLI ESITI	6
5.2. VARIAZIONI NEI TITOLI POSITIVI	7
<b>6. 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. CONCLUSIONI</b>	<b>9</b>

## 1. INTRODUZIONE

Il presente report descrive i risultati relativi al circuito di prove interlaboratorio, organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per la Leptospirosi (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
20/11/2015	Invio inviti iscrizioni
21/12/2015	Termine ultimo iscrizioni
18/01/2016	Spedizione campioni
29/02/2016	Termine inserimento esiti prove

### 1.2 PARTECIPANTI

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

- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise (Teramo)
- 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 nono 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 4 positivi (3 verso un solo sierogruppo e uno verso due sierogruppi, Canicola e Icterohaemorrhagiae, contemporaneamente) e uno negativo (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	Positivo sierogruppo Australis	1/800
2	Positivo sierogruppo Canicola	1/800
	Positivo sierogruppo Icterohaemorrhagiae	1/800
3	Positivo sierogruppo Pomona	1/400
4	Positivo sierogruppo Sejroe	1/3200
5	Negativo	//

### 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. Per ottenere il siero con positività verso due sierogruppi sono stati mescolati, in parti uguali due sieri a titolo noto. 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
1	Australis	Bratislava	Riccio 2
2	Canicola	Canicola	Alarik
	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Wijnberg
3	Pomona	Pomona	Pomona
4	Sejroe	Hardjo	Hardjoprjaitno

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								
	L 16	L 20	L 29	L 72	L 73	L 88	L 99	L 258	L 270
1	215	253	494	736	167	213	380	231	539
2	565	524	313	775	920	427	305	102	782
3	935	294	295	907	983	632	120	933	542
4	780	260	889	855	362	208	291	700	714
5	910	888	265	607	784	703	101	713	995

### 2.3. DISTRIBUZIONE

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

### 3. ANALISI STATISTICA

La struttura deputata alla valutazione dei risultati è il Reparto Sorveglianza Epidemiologica Lombardia (SEL) 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 verso un solo sierogruppo, un esito positivo viene considerato conforme all'atteso quando viene correttamente identificato tale sierogruppo. A tal fine devono verificarsi entrambe le seguenti condizioni:

- ogni sierovariante, nell'ambito del sierogruppo che ha fornito la positività, deve restituire un esito positivo;
- tale titolo è più elevato di tutti gli eventuali altri titoli rilevati per le sierovarianti degli altri sierogruppi.

Nel caso del campione 2, positivo verso due sierogruppi, vengono presi in considerazione i due titoli più elevati riportati dai laboratori partecipanti. Ai fini della conformità dell'esito, eventuali titoli eterologhi devono essere inferiori a entrambi i titoli rilevati per i sierogruppi verso i quali il campione viene considerato positivo.

## 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 (OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2015, capitolo 2.1.9).

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: otto laboratori hanno utilizzato la sierovariante Copenhageni che, in 5 casi (laboratori 16, 29, 72, 73, 258), è stata affiancata alla sierovariante Icterohaemorrhagiae; un solo laboratorio (99) ha utilizzato unicamente la sierovariante Icterohaemorrhagiae;
- Sejroe: tutti i laboratori hanno utilizzato la sierovariante Hardjo affiancata in un caso (laboratorio 258) alla sierovariante Saxkoebing.

### 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, oltre 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 (considerando il campione 2 con doppia positività, il totale di esiti positivi è pari a cinque);

- 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 il campione 5 (negativo);
- 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	L 16	L 20	L 29	L 72	L 73	L 88	L 99	L 258	L 270
1	Australis	Bratislava	200	800	400	200	400	<100	400	400	800
2	Australis	Bratislava	<100	<100	<100	<100	<100	400	<100	<100	<100
	Canicola	Canicola	200	400	400	400	200	400	200	400	800
	Grippotyphosa	Grippotyphosa	<100	200	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100
	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	100	200	400	400	400	200		800	800
	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	100		400	100	100		200	200	
3	Pomona	Pomona	100	400	<100	800	<100	<100	<100	100	400
	Sejroe	Hardjo	<100	<100	<100	<100	<100	1600	<100	<100	<100
4	Australis	Bratislava	<100	<100	<100	<100	<100	100	<100	<100	<100
	Pomona	Pomona	<100	<100	<100	<100	<100	3200	<100	<100	<100
	Sejroe	Saxkoebing								100	
	Sejroe	Hardjo	1600	3200	1600	3200	3200	<100	1600	6400	3200
5	Pomona	Pomona	<100	<100	200	<100	<100	<100	<100	<100	<100
			<b>L 16</b>	<b>L 20</b>	<b>L 29</b>	<b>L 72</b>	<b>L 73</b>	<b>L 88</b>	<b>L 99</b>	<b>L 258</b>	<b>L 270</b>
<b>Sierogruppi corretti (cp positivi)</b>			5	4	4	5	4	1	4	5	5
<b>Falsi negativi</b>					1		1	3	1		
<b>Falsi positivi (cp negativo)</b>					1						
<b>Titoli eterologhi</b>				1				4			

### 5.1 RIEPILOGO DEGLI ESITI

Quattro laboratori hanno fornito un esito conforme per tutti quattro i campioni positivi.

Quattro laboratori hanno fornito un esito conforme per tre campioni positivi su quattro; tra questi:

- tre laboratori hanno fornito un esito negativo, per tutti i sierogruppi, per il campione 3 (positivo per il sierogruppo Pomona);
- il laboratorio 20 ha riportato, per il campione 2 (positivo per i sierogruppi Canicola e Icterohaemorrhagiae), una positività anche per il sierogruppo Grippotyphosa con un titolo pari a quello ottenuto per il sierogruppo Icterohaemorrhagiae: risulta pertanto identificato in modo univoco il solo sierogruppo Canicola.

Il laboratorio 88 ha fornito un esito conforme per uno solo dei quattro campioni positivi: per tale campione (campione 2: positivo per i sierogruppi Canicola e Icterohaemorrhagiae), è stata indicata una positività anche per il sierogruppo Australis con un titolo (400) pari a quello ottenuto per il sierogruppo Canicola. Dato che il titolo per il sierogruppo Icterohaemorrhagiae risulta pari a 200, viene considerato identificato correttamente il solo sierogruppo Canicola.

Per gli altri tre campioni positivi (1, 3, 4) gli esiti non conformi sono da ascrivere a esiti negativi con sierovarianti omologhe. A ciò si aggiunge, per i campioni 3 e 4, il rilievo di positività verso sierogruppi eterologhi.

Un solo laboratorio ha fornito un esito non conforme per il campione 5: positività per il sierogruppo Pomona.

## 5.2 VARIAZIONI NEI TITOLI POSITIVI

Le variazioni nei titoli positivi riportati dai laboratori partecipanti sono indicate nella tabella 5. Sono state considerate le 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
1	Bratislava	8		2	4	2			
2	Canicola	9		3	5	1			
	Copenhageni	8	1	2	3	2			
	Icterohaemorrhagiae	6	3	2	1				
3	Pomona	5	2		2	1			
4	Hardjo	8					3	4	1

## 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 è riportato nella tabella 6.

**TABELLA 6 – RIEPILOGO DEGLI ESITI CORRETTI/ERRATI**

CP	SIEROGRUPPO	CORRETTI	ERRATI	% CORRETTI	CI 95%(*)
1	Australis	8	1	88,88	51,7 – 99,7
2	Canicola	9	0	100,00	66,4 – 100
	Icterohaemorrhagiae	7	2	77,77	40,0 – 97,2
3	Pomona	5	4	55,55	21,2 – 86,3
4	Sejroe	8	1	88,88	51,7 – 99,7
5	(Negativo)	8	1	88,88	51,7 – 99,7

(\*) Gli intervalli di confidenza sono stati calcolati con il metodo di Clopper – Pearson

#### 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 Kappa di Cohen (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 (laboratorio di riferimento). In tal modo è 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
16	45	1		45/45
20	40	0,895	(0,69 – 1)	39/40
29	45	0,808	(0,55 – 1)	43/45
72	45	1		45/45
73	45	0,897	(0,7 – 1)	44/45
88	40	0,263	(-0,14 – 0,66)	36/40
99	40	0,875	(0,63 – 1)	39/40
258	50	1		50/50
270	40	1		40/40

Per ottenere una valutazione complessiva del circuito interlaboratorio è stato calcolato un 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.

Nella tabella 8 sono evidenziati i valori della Kappa di Cohen con il relativo  $p$  – value.

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

INDICE	VALORE
Kappa di Cohen	0,865 (0,79 – 0,94)
$p$ – value	<0,001

## 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
1	Bratislava	8		2	4	2				400
2	Canicola	9		3	5	1				400
	Copenhageni	8	1	2	3	2				400
	Icterohaemorrhagiae	6	3	2	1					150
3	Pomona	5	2		2	1				400
4	Hardjo	8					3	4	1	3200

## 7. CONCLUSIONI

Per quanto riguarda l'aspetto qualitativo della prova (identificazione di sierogruppo) la performance complessiva ottenuta dai laboratori partecipanti, valutata mediante il calcolo della Kappa di Cohen, indica una quasi 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.

Considerando i singoli laboratori è possibile formulare per tutti i partecipanti, ad eccezione del laboratorio 88, una valutazione di concordanza eccellente con gli esiti di riferimento.

Va peraltro evidenziato come ben quattro laboratori abbiano fornito un esito falso negativo per il campione 3 (positivo per il sierogruppo Pomona); due laboratori hanno inoltre comunicato, per questo campione, un titolo “insolitamente basso”.

L'identificazione del sierogruppo Pomona sembra abbia costituito la principale difficoltà nell'ambito del circuito se si considera anche che un laboratorio ha comunicato un esito positivo per il sierogruppo Pomona per il campione 5 (negativo). Nel complesso, per il campione positivo per il sierogruppo Pomona, gli esiti errati sono stati 4 su 9 (44,44%).

Il riscontro di titoli eterologhi, eccettuati gli esiti del laboratorio 88, è stato trascurabile: il solo campione 2 è stato considerato positivo (peraltro a un titolo basso), dal laboratorio 20, per il sierogruppo Gryppotyphosa.

Per quanto riguarda l'aspetto quantitativo della prova, i titoli forniti sono risultati pressoché omogenei eccettuati tre titoli “insolitamente bassi” (uno per il sierogruppo Icterohaemorrhagiae, sierovariante Copenhageni; due per il sierogruppo Pomona, sierovariante Pomona).

Va comunque ricordato che non è possibile, sotto l'aspetto quantitativo, designare un “risultato corretto” per un campione esaminato mediante agglutinazione microscopica, in quanto risultati “insolitamente bassi” o “insolitamente alti” non implicano necessariamente una procedura scorretta o l'inidoneità del sistema di saggio.