



**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 2023

REPORT FINALE

COORDINATORE DEL CIRCUITO INTERLABORATORIO

Mario D'Incau

Reparto Tecnologie Biologiche Applicate – Laboratorio Batteriologia Specializzata

Email mario.dincau@izsler.it, crn.leptosirosi@izsler.it

Telefoni 030 2290268, 030 2290323

Fax 030 2290623

ESPERTO STATISTICO

Veronica Cappa

Sorveglianza Epidemiologica

COLLABORATORI TECNICI

Marcello Fin

Eufrazia Peroni

Cosima Tomasoni

Reparto Tecnologie Biologiche Applicate – Laboratorio Batteriologia Specializzata

INDICE

1	INTRODUZIONE	2
1.1.	GESTIONE ORGANIZZATIVA E PIANIFICAZIONE	2
1.2	PARTECIPANTI	2
1.3	RISERVATEZZA	3
2	MATERIALI E METODI	3
2.1.	TIPOLOGIA DEI CAMPIONI	3
2.2.	PREPARAZIONE	3
2.3.	DISTRIBUZIONE	4
3.	ANALISI STATISTICA	4
3.1.	PROVE DI TIPO QUALITATIVO	4
3.2.	PROVE DI TIPO QUANTITATIVO	5
3.3	PARAMETRI DI ACCETTABILITÀ DEI RISULTATI	5
4.	PRESENTAZIONE DEI RISULTATI	5
4.1	METODICHE IMPIEGATE	5
4.2	SISTEMI DI SAGGIO (ANTIGENI)	5
4.3.	ESPRESSIONE DEI RISULTATI	5
5.	RISULTATI	6
5.1	RIEPILOGO DEGLI ESITI	7
5.2	VARIAZIONI NEI TITOLI POSITIVI	7
6.	VALUTAZIONE STATISTICA	7
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
7.	CONCLUSIONI	9
8.	BIBLIOGRAFIA	10
9.	ALLEGATI	11

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 preliminare e 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
27/12/2022	Invio inviti all'iscrizione
28/02/2023	Termine ultimo iscrizioni
15/03/2023	Spedizione campioni
15/04/2023	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 4 positivi (verso un solo sierogruppo) 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 Canicola	1/400
2	Positivo sierogruppo Icterohaemorrhagiae	1/200 ^(A)
3	<i>Campione negativo</i>	//
4	Positivo sierogruppo Pomona	1/3200
5	Positivo sierogruppo Tarassovi	1/800

^(A) Titolo nei confronti della sierovariante Copenhageni (negativo per la sierovariante Icterohaemorrhagiae)

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
1	Canicola	Canicola	Alarik
2	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Wijnberg
4	Pomona	Pomona	Pomona
5	Tarassovi	Tarassovi	Mitis Johnson

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	L88	L258	L270	L284	L300	
1	103	190	144	195	509	364	442	120	
2	501	246	190	270	868	447	576	415	
3	564	371	235	665	875	540	756	592	
4	638	474	253	709	891	932	802	595	
5	948	697	992	985	986	955	837	813	

2.3. DISTRIBUZIONE

I campioni sono stati inviati in condizioni di refrigerazione ($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) 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.

3.1. PROVE DI TIPO QUALITATIVO

Il grado di accordo dei risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al ring test è stato calcolato mediante due indici di concordanza: l'indice K di Fleiss (Fleiss, 1971) che misura il grado di concordanza tra laboratori a livello generale e l'indice K di Cohen (Cohen, 1960) per ogni laboratorio, per misurare la concordanza tra il risultato espresso dal laboratorio ed il risultato atteso (definito dal CRNL). L'interpretazione dei test è stata effettuata seguendo il metodo proposto da Landis e Koch (1977) (tabella 4). Infine, per ottenere una valutazione complessiva del circuito inter-laboratorio è stato calcolato un indice K di Cohen “globale” per confrontare il numero di campioni positivi e negativi ottenuti da tutti i laboratori con i risultati attesi. 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 omogeneità può essere verificata tramite il test Chi-quadrato (o il test esatto di Fisher nel caso di basse frequenze) il quale testa l'ipotesi che il numero di esiti Positivi/Negativi sia uguale tra laboratori (Agresti, 2007).

TABELLA 4 – INTERPRETAZIONE DEGLI INDICI K DI COHEN E K DI FLEISS SECONDO LANDIS E KOCH

K score	Interpretazione
<0	Nessun accordo
[0.0-0.20]	Accordo scarso
[0.21-0.40]	Accordo debole
[0.41-0.60]	Accordo moderato
[0.61-0.80]	Accordo considerevole
[0.81-1.0]	Accordo perfetto

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 (2021).

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.

Il laboratorio 16 ha valutato anche la positività nei confronti del sierogruppo Bataviae.

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, 88, 258, 300), è stata affiancata dalla sierovariante Icterohaemorrhagiae;
- Sejroe: tutti i laboratori hanno utilizzato la sierovariante Hardjo affiancata in due casi (laboratori 16, 258) 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: l'intervallo 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 5 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 come sistema di saggio da un determinato laboratorio;
- gli esiti non conformi all'atteso sono evidenziati in carattere rosso grassetto.

La tabella 5 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 con un titolo eterologo: esiti positivi verso sierogruppi diversi da quelli omologhi.

Sono omessi (in quanto non riscontrati):

- il numero di esiti falsi positivi: esiti positivi, per qualsiasi sierogruppo, per il campione 3 (negativo);

TABELLA 5 – TITOLI RILEVATI PER SINGOLO CAMPIONE E RIEPILOGO DEGLI ESITI

CP	SIEROGRUPPO	SIEROVARIANTE	L16	L20	L72	L88	L258	L270	L284	L300
1	Canicola	Canicola	200	400	400	200	400	400	200	200
2	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	< 100	< 100	200	< 100	200	200	200	100
4	Pomona	Pomona	1600	1600	6400	1600	400	3200	1600	1600
	Canicola	Canicola	<100	<100	400	<100	<100	<100	<100	<100
	Grippotyphosa	Grippotyphosa	<100	<100	<100	<100	<100	<100	400	<100
	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	<100	100	<100	<100	<100	<100	<100	<100
	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	<100		200	<100	<100			<100
5	Tarassovi	Tarassovi	800	800	800	400	800	800	800	800
			L16	L20	L72	L88	L258	L270	L284	L300
Sierogruppi corretti (cp positivi)			3	3	4	3	4	4	4	4
Falsi negativi			1	1		1				
Titoli eterologhi				1	2				1	

5.1 RIEPILOGO DEGLI ESITI

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

I laboratori 16, 20 e 88 hanno fornito un esito falso negativo per il campione 2.

Per il campione 4 sono stati restituiti titoli eterologhi per tre diversi sierogruppi: Canicola, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae; il laboratorio 72, in particolare, ha indicato un esito positivo per due di questi sierogruppi. Tutti i laboratori hanno fornito esiti conformi per il campione negativo. Inoltre, i laboratori che hanno utilizzato la sierovariante Icterohaemorrhagiae hanno fornito correttamente un esito negativo per il campione 2.

5.2 VARIAZIONI NEI TITOLI POSITIVI

Le variazioni nei titoli positivi riportati dai laboratori partecipanti sono indicate nella tabella 6. Sono state considerate le sole sierovarianti per le quali sono stati riportati almeno cinque esiti positivi.

TABELLA 6 – VARIAZIONI NEI TITOLI POSITIVI

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

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 7.

TABELLA 7 – RIEPILOGO NUMERO TOTALE ESITI CORRETTI/ERRATI

CP	SIEROGRUPPO	CORRETTI	ERRATI	% CORRETTI	95% CI (*)
1	Canicola	8	0	100,00	63,06 - 100,00
2	Icterohaemorrhagiae	5	3	62,50	24,49 - 91,48
3	<i>Campione negativo</i>	8	0	100,00	63,06 - 100,00
4	Pomona	8	0	100,00	63,06 - 100,00
5	Tarassovi	8	0	100,00	63,06 - 100,00
Totale		37	3	92,50	79,61 - 98,43

(*) 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 grado di valutare la concordanza tra i risultati di quel laboratorio e quelli del laboratorio di riferimento.

La tabella 8 riporta, per ciascun laboratorio, i valori della K di Cohen e la relativa accuratezza.

TABELLA 8 – INDICE DI CONCORDANZA TRA CIASCUN LABORATORIO E IL LABORATORIO DI RIFERIMENTO

LABORATORIO	NUMERO ESITI	K DI COHEN	95% CI	ACCURATEZZA
16	55	0,85	0,56 - 1,0	54/55
20	40	0,72	0,36 - 1,0	38/40
72	55	0,78	0,49 - 1,0	53/55
88	45	0,85	0,55 - 1,0	44/45
258	50	1,0	0,74 - 1,0	50/50
270	40	1,0	0,69 - 1,0	40/40
284	40	0,87	0,63 - 1,0	39/40
300	45	1,0	0,72 - 1,0	45/45

Per confrontare i valori ottenuti da tutti i laboratori con i risultati attesi è stato calcolato l'indice K di Cohen complessivo e l'indice K di Fleiss che indica il grado di concordanza tra laboratori a livello generale (tabella 9).

TABELLA 9 – VALORI DEGLI INDICI DI CONCORDANZA

INDICE	VALORE (95% CI)
K Cohen	0,81 (0,60 - 1,00)
<i>p</i> – value	<0,0001
K Fleiss	0,82 (0,76 - 0,88)

L'indice K di Cohen mostra un accordo perfetto (0,81; $p < 0,0001$) e l'indice K di Fleiss è risultato pari a 0,82 indicando una concordanza perfetta tra i laboratori. Si precisa che sono stati considerati discordi gli esiti del campione 2 dei laboratori 16, 20 e 88.

6.2 ESITO QUANTITATIVO – TITOLO SIEROLOGICO

Per avere una visione complessiva degli esiti delle titolazioni sono state messe in evidenza (tabella 10) 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 10 – DISTRIBUZIONI DI FREQUENZA DEI TITOLI SIEROLOGICI

CP	SIEROVARIANTE	TOTALE	N. LABORATORI RIPORTANTI IL TITOLO:							MEDIANA
			100	200	400	800	1600	3200	6400	
1	Canicola	8		4	4					300
2	Copenhageni	5	1	4						200
4	Pomona	8			1		5	1	1	1600
5	Tarassovi	8			1	7				800

7. CONCLUSIONI

Da una visione complessiva dei risultati forniti dai laboratori partecipanti, si può osservare che tre laboratori hanno fornito esiti falsi negativi (per il campione 2, positivo per il sierogruppo Icterohaemorrhagiae). Nessun laboratorio ha riportato esiti falsi positivi, mentre sono stati riscontrati, nel complesso, quattro titoli eterologhi (riportati da tre laboratori).

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 concordanza perfetta 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 due di loro una valutazione di concordanza considerevole con gli esiti di riferimento e per gli altri sei una valutazione di concordanza perfetta.

Per quanto riguarda infine l'aspetto quantitativo, i titoli forniti sono risultati pressoché omogenei con scostamenti che, nella maggioranza dei casi, rientrano negli intervalli di accettabilità per questa prova.

Sono stati riscontrati per il campione 4 (positivo per il sierogruppo Pomona) un titolo “insolitamente basso” (1/400) e un titolo “insolitamente alto” (1/6400).

8. BIBLIOGRAFIA

1. Office International des Épizooties (2021) Chapter 3.1.12 Leptospirosis (version adopted in May 2021). In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. World Organisation for Animal Health, Paris (URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf)
2. Agresti, A. (2007) An introduction to categorical data analysis, 2nd ed. New York: John Wiley and Sons
3. Cohen, J. (1960) A coefficient of agreement for nominal scales. Educational and Psychological Measurement 20: 37-46
4. Fleiss, J. L. (1971) Measuring nominal scale agreement among many raters. Psychological Bulletin 76: 378-382
5. Landis, J. Koch, G. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 33: 159-174

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
Bataviae	Bataviae	Swart	1
Canicola	Canicola	Alarik	8
Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V	7
		Duyster	1
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Wijnberg	8
	Icterohaemorrhagiae	Bianchi	2
		RGA	3
Pomona	Pomona	Pomona	8
Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno	8
	Saxkoebing	Mus 24	3
	Sejroe	M84	1
Tarassovi	Tarassovi	Mitis Johnson	8