



Circuito interlaboratorio  
per l'assicurazione qualità  
dei risultati



Circuito diagnostica bovina e suina mediante tecniche biomolecolari  
**Report definitivi schemi BM01-22, BM03-22, BM04-22,  
BM05-22**

Maggio 2023



**Piattaforma Diagnostica Molecolare**

SCT3 – Padova, Vicenza e Rovigo – Diagnostica in sanità animale  
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie



## Circuiti interlaboratorio Aqua BM



### Report del circuito interlaboratorio di diagnostica bovina e suina mediante tecniche biomolecolari

Aqua BM01-22, BM03-22, BM04-22, BM05-22

**Ente organizzatore:**

**Istituto Zooprofilattico sperimentale delle Venezie**

**Lab.: Virologia Diagnostica**

**Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (PD)**

**Responsabile del Circuito interlaboratorio Aqua BM:**

**Dr.ssa Letizia Ceglie**

**[lceglie@izsvenezie.it](mailto:lceglie@izsvenezie.it)**

**Esperto tecnico:**

**Dr.ssa Letizia Ceglie**

**[lceglie@izsvenezie.it](mailto:lceglie@izsvenezie.it)**

**049/8084237**

**Esperto statistico:**

**Dr.ssa Marzia Mancin**

**[mmancin@izsvenezie.it](mailto:mmancin@izsvenezie.it)**

**049/8084431**

**Schema BM01, BM03, BM04, BM05**

## REPORT DEFINITIVO

### Introduzione: pianificazione dei circuiti interlaboratorio di diagnostica bovina e suina mediante tecniche biomolecolari

Questo report definitivo contiene i risultati del circuito interlaboratorio, organizzato nell'ambito del Circuito Aqua, dalla U.O Piattaforma Diagnostica Molecolare afferente alla Struttura complessa "Diagnostica in Sanità animale" (SCT3), con la finalità di verificare le performance relative a metodiche biomolecolari impiegate per la diagnosi di malattie che colpiscono le specie bovina e suina e per le quali sono state ufficializzate negli anni passati a partire dal 2006 le procedure di prova (PdP) seguenti e successive revisioni:

- Rilevazione dell'RNA del virus della sindrome respiratoria e riproduttiva del suino (PRRSV) mediante rRT-PCR.
- Rilevazione del DNA di *Neospora caninum* mediante PCR (regione conservata del gene codificante per la subunità piccola 18S del rRNA).
- Rilevazione di DNA di *Coxiella burnetii* mediante rPCR (*IS1111*).
- Rilevazione di DNA di circovirus suino di tipo 2 mediante rPCR (ORF 1).

Sono state sottoposte a *ring test* analisi adottate nella *routine* nei laboratori di biologia molecolare di questo Istituto per diagnosi virologiche e, in un caso, batteriologica e parassitologica. Dal momento che tali indagini sono effettuate con metodiche biomolecolari real-time o end-point (rRT-PCR, PCR r rPCR), presso le U.O. di biologia molecolare dislocate nelle province e regioni di competenza dell'Istituto, questo circuito interlaboratorio è stato proposto anche ai laboratori delle sezioni territoriali al fine di confrontare la riproducibilità interlaboratorio e garantire un'uniformità nei risultati. Al circuito partecipano tutti i laboratori facenti richiesta, come laboratori afferenti ad altri Istituti Zooprofilattici o ad enti privati.

In base alle adesioni ottenute, è stata stilata la seguente tabella che riporta il numero totale dei laboratori partecipanti con l'indicazione per ciascuno gruppo delle prove di interesse:

Circuito interlaboratorio	Totale adesione laboratori
RT-PCR PRRSV (BM1/21)	7
PCR Neospora (BM3/21)	5
<i>Coxiella b.</i> (BM4/21)	7
PCR PCV2 (BM5/21)	4

Infine si precisa che per il laboratorio di Legnaro, l'operatore che esegue il circuito è diverso da chi si occupa dell'allestimento dei campioni per quel circuito.

### 1 – CARATTERISTICHE, COMPOSIZIONE E CONTROLLO DEI CAMPIONI

Per ogni prova sono stati preparati ed inviati 10 campioni anonimi, identificati univocamente; in ogni singola etichetta nell'ordine sono riportati il laboratorio cui è destinato il campione (ad es. lab.2), il circuito di appartenenza del campione cui è riferito il patogeno ricercato (ad es: NEO al posto di BM03/2022), la tipologia della matrice di quel campione (ad es. siero/ cellule/ organo/ latte /DNA) e un numero che identifica quel campione (es: 99), univoco per laboratorio/circuito e matrice. I pannelli dei campioni selezionati da esaminare con metodi biomolecolari a scelta (ad es. PCR end-point o Real-time) sono composti per la maggior parte da ceppi di collezione presenti presso la Struttura Complessa di Diagnostica in Sanità animale. In alcuni casi sono stati impiegati campioni di campo, precedentemente caratterizzati

con altri metodi, come ad esempio il sequenziamento dell'amplificato (Neospora = cervello bovino positivo, PCV2) oppure in altri casi abbiamo utilizzato ceppi virali di riferimento (ad es. PRRSV ceppo EU e AM), propagati in colture cellulari competenti e controllati preventivamente per le prove oggetto del circuito. Infine, per l'analisi di ricerca di *Coxiella burnetii*, da quest'anno, per uniformarci ad altri colleghi del nostro Istituto impegnati in altri Schemi Aqua, inviamo il pannello in un nuovo conservante/inattivante che mantiene il campione stabile per 7 giorni a temperatura di refrigerazione, denominato PrimeStore MTM, di cui è stata allegata la scheda di sicurezza ai soli laboratori interessati al momento dell'invio.

In genere le provette destinate a tutte le analisi contengono materiale per due estrazioni (circa 450-500µl).

I campioni, sono esaminati una prima volta per determinare il grado di positività degli stessi, quindi alcuni sono mantenuti tal quali, altri sono allestiti *ad hoc* tramite diluizione di campione positivo in campione negativo, per aumentare la scala di osservazione della rilevabilità del metodo adottato e verificare contemporaneamente il mantenimento delle performance.

Per i campioni costituiti da diluizioni seriali di campione positivo, l'esito atteso è talvolta considerato come "*non definibile a priori*" per diluizioni pari o superiori a quelli cosiddetti "soglia" ossia alla LoD (*lower limit of detection*), normalmente riscontrata in fase di validazione del metodo o di allestimento dei campioni. A tali diluizioni, infatti, l'esito può essere "positivo" o "negativo" per una maggiore o minore sensibilità analitica del metodo impiegato o in alcuni casi "dubbio" se la banda di amplificazione, seppure presente, non è ulteriormente caratterizzabile, come ad es. nel caso di restrizione enzimatica successiva all'amplificazione per la definitiva caratterizzazione dell'amplicone, laddove previsto.

### **Prove di omogeneità e stabilità**

Una volta preparati tutti i campioni selezionati e le relative diluizioni in volumi idonei per l'allestimento dei diversi pannelli, aliquote di ciascun campione sono esaminate una seconda volta per controllare che il grado di positività riscontrato dopo la preparazione corrisponda all'atteso. Se i risultati confermano quelli attesi, i campioni sono immediatamente etichettati e congelati a -80°C, ove restano conservati fino alla spedizione che è avvenuta in ghiaccio secco il 20 giugno 2022, accompagnati da una scheda descrittiva. Inoltre, dopo un primo congelamento e prima dell'invio dei pannelli, 3 aliquote di ciascun campione sono analizzate nel laboratorio preparatore. Nell'arco di tempo di 1 settimana successiva alla prima verifica, infatti, sono scongelate 3 aliquote di ciascun campione, che vengono conservate a temperatura di refrigerazione ed analizzate in giornate diverse e successive per verificare l'eventuale perdita di segnale a causa dello scongelamento e contestualmente controllare la loro omogeneità. Infine, come prova di stabilità nel tempo alle condizioni di conservazione previste per i pannelli, un operatore appartenente al laboratorio preparatore, ma non coinvolto nella preparazione dei pannelli esamina un'aliquota di ciascun campione allo scadere del termine di presentazione dei risultati.

Se queste prove danno risultati conformi all'atteso, si dimostra che né le operazioni di allestimento dei pannelli, né eventuali disfunzioni nella conservazione, eventualmente subite nel trasporto possono verosimilmente inficiare l'attendibilità del dato del campione in esame. Viceversa, se durante le prove uno o più campioni non si dimostra stabile o omogeneo, viene sostituito nel pannello e le prove sono ripetute solo sui campioni problematici.

## **2 – MODALITÀ DI TRATTAMENTO DEI CAMPIONI**

I campioni non sono inviati sotto forma di liofilati, pertanto non vengono prescritte delle modalità di risospensione. All'atto dell'invio dei pannelli a ciascun laboratorio partecipante è indirizzata in allegato una lettera che descrive i campioni costituenti i diversi schemi in termini di volumi e matrice. L'indicazione della tipologia dalla matrice costituente ciascun campione del pannello è presente anche sull'etichetta posta su ciascuna provetta per facilitare le fasi di estrazione dell'acido nucleico oggetto della ricerca, favorendo la massima efficienza di questo passaggio,

parte integrante del processo di diagnosi e garantendo, per quanto possibile, una migliore capacità diagnostica del laboratorio esaminatore.

Nei laboratori destinatari i pannelli da esaminare sono da conservare in congelatore fino all'esecuzione dell'analisi. La data ultima per l'invio dei risultati era stabilita per il **28 luglio 2022**. Tuttavia a causa di problemi nel mantenimento della catena del freddo nel trasporto dei campioni nei territori dell'Italia meridionale e delle due isole, cinque laboratori hanno richiesto l'invio di nuovi pannelli per 2 schemi (2 per BM01/22 e 3 per BM 3/22). Pertanto alcuni tra questi laboratori, pur prevenendo il laboratorio organizzatore in merito, non hanno potuto rispettare la data di consegna degli esiti, e l'elaborazione statistica per la stesura del report definitivo è stata possibile soltanto alla fine del mese di novembre.

### 3 – DETERMINAZIONE DEI VALORI ATTESI

In linea di massima, l'analisi preventiva assegna ad ogni campione preparato l'esito atteso. In genere, nei casi di discordanza con l'atteso, si verifica il dato con quello ottenuto dal laboratorio preparatore, ma si tiene in conto anche dell'andamento preponderante dei laboratori partecipanti.

**Le tabelle seguenti riportano i campioni distribuiti con la relativa descrizione ed il valore atteso:**

Lo schema "PRRS" (BM01/22) contiene 10 provette costituite da campioni di omogenati d'organo, sieri e lisati cellulari infetti.

RT-PCR PRRS	BM01/22	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Siero positivo EU italian-like diluito 1:100	<b>Positivo EU Italian-like</b>
2	Omogenato d'organo suino negativo	<b>negativo</b>
3	Organo positivo EU non diluito	<b>positivo EU</b>
4	Organo positivo NA diluito 1:10	<b>positivo NA</b>
5	Pool di sieri positivi EU, non diluito	<b>positivo EU</b>
6	Organo positivo NA diluito 1:100	<b>positivo NA</b>
7	Siero suino negativo	<b>negativo</b>
8	Organo positivo EU non diluito	<b>positivo EU</b>
9	Cellule infette con ceppo PRRSV NA diluite 1:10000	<b>positivo NA</b>
10	Cellule infette con ceppo PRRSV EU diluite 1:100	<b>positivo EU</b>

Lo schema "Neospora" (BM03/22) contiene 10 provette: tutti i campioni sono costituiti da omogenati d'organo.

PCR <i>Neospora caninum</i>	BM03/22	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Organo bovino debolmente positivo NEOSPORA	<b>positivo</b>
2	Organo bovino positivo NEO NEOSPORA diluito 1:3	<b>positivo</b>
3	Organo bovino debolmente positivo NEO NEOSPORA	<b>positivo</b>
4	Organo bovino positivo diluito 1:3 NEO NEOSPORA	<b>positivo</b>
5°	Organo ruminante negativo NEO / positivo TOXOPLASMA	<b>Negativo NEO Positivo TOXO</b>
6	Organo bovino positivo NEOSPORA	<b>positivo</b>

7	Organo bovino positivo NEOSPORA	<b>positivo</b>
8	Organo bovino negativo	<b>negativo</b>
9	Organo bovino positivo NEOSPORA	<b>positivo</b>
10	Organo bovino positivo NEOSPORA	<b>positivo</b>

Organo °: positivo Toxoplasma.

Lo schema "FQ" (BM04/22) conteneva 10 provette, in 6 casi si trattava di omogenati d'organo, mentre le 4 rimanenti erano campioni di latte. Per uniformarsi a quanto fatto in altri laboratori del nostro Istituto e per ragioni di sicurezza, tutti i campioni di questo schema sono stati allestiti in 500µl di una nuova soluzione conservante/inattivante in grado di mantenere il campione stabile per 7 giorni a temperatura di refrigerazione, denominata PrimeStore Molecular Transport Medium (EKF Diagnostics for Life). Laddove i campioni allestiti fossero stati diluiti è riportato in tabella.

<b>PCR <i>Coxiella burnetii</i></b>	<b>BM04/22</b>	
<b>Campione</b>	<b>Descrizione dei campioni</b>	<b>Valore atteso</b>
1	Latte positivo non diluito	<b>Positivo</b>
2	Organo bovino negativo	<b>Negativo</b>
3	Organo positivo non diluito	<b>Positivo</b>
4	Latte di massa bovino negativo	<b>Negativo</b>
5	Latte positivo non diluito	<b>Positivo</b>
6	Organo bovino negativo	<b>Negativo</b>
7	Organo positivo diluito 1:1000	<b>Positivo</b>
8	Latte positivo non diluito	<b>Positivo</b>
9	Organo positivo diluito 1:1000	<b>Positivo</b>
10	Organo bovino positivo	<b>Positivo</b>

Lo schema "PCV2" (BM05/22) contiene 10 provette contenenti campioni costituiti da 3 siero e da 7 omogenati d'organo diluiti e non diluiti.

<b>PCR <i>circovirus tipo 2</i></b>	<b>BM05/22</b>	
<b>Campione</b>	<b>Descrizione dei campioni</b>	<b>Valore atteso</b>
1	Siero suino positivo non diluito	<b>positivo</b>
2	Organo suino positivo diluito 1:1000	<b>positivo</b>
3	Siero suino positivo non diluito	<b>positivo</b>
4	Siero suino negativo	<b>negativo</b>
5	Organo suino positivo non diluito	<b>positivo</b>
6	Organo suino positivo Diluito 1:100000	<b>positivo</b>
7	Organo suino positivo diluito 1:1000	<b>positivo</b>
8	Organo suino positivo non diluito	<b>positivo</b>
9	Organo suino negativo	<b>negativo</b>
10	Organo suino positivo diluito 1:10000	<b>positivo</b>

#### 4 – DETERMINAZIONE DEI VALORI ASSEGNATI

##### Riservatezza

Per garantire la riservatezza dei dati, i laboratori sono identificati in modo anonimo. A ciascun laboratorio è attribuito un codice, che viene comunicato via mail in forma confidenziale a ciascun partecipante per la decodifica del proprio risultato e può variare di anno in anno in funzione del numero dei partecipanti ai vari schemi. I dati raccolti durante il circuito interlaboratorio, trattati in forma confidenziale e riservata, sono impiegati dal laboratorio organizzatore soltanto per l'analisi e la valutazione dei risultati.

Di seguito sono presenti le tabelle per la decodifica dei campioni per ciascun pannello e per laboratorio. Si precisa che, in seguito ai problemi riscontrati nel trasporto, agli schemi inviati successivamente a 4 laboratori su 5 (laboratori 10, 12, 15 e 18), la numerazione del secondo invio è rimasta la medesima del primo invio perché i campioni non sono stati processati. Per il laboratorio 11, invece, la numerazione del secondo invio è stata nuovamente attribuita perché l'anomalia dei campioni di quello schema è stata accertata in un secondo momento a causa di esiti anomali riscontrati.

##### TABELLE DI DECODIFICA DEI CAMPIONI PER SCHEMA

campione	PRRS BM01-22							
	lab2	lab3	Lab9	Lab11	Lab11 (secondo invio)	lab14	lab15 (secondo invio)	lab 16
1	463	305	510	196	528	469	797	854
2	210	704	836	314	164	507	135	816
3	159	192	266	703	442	654	624	241
4	796	253	885	644	684	541	696	719
5	656	589	552	529	232	415	476	658
6	811	728	718	744	785	884	782	308
7	477	594	248	123	843	189	844	563
8	488	122	130	454	361	852	531	837
9	245	618	451	416	113	817	132	187
10	581	375	433	539	652	619	623	742

campione	NEO BM03-22				
	lab2	lab10 (secondo invio)	lab12 (secondo invio)	lab13	lab18 (secondo invio)
1	493	226	213	362	439
2	181	258	283	714	580
3	349	456	240	418	605
4	174	648	764	280	261
5	679	608	218	753	626
6	611	273	789	705	126
7	301	328	177	631	323
8	515	247	393	208	209
9	815	518	268	459	765
10	887	602	685	567	492

campione	FQ BM04-22					
	lab2	lab7	lab12	lab13	lab17	lab18
1	620	558	496	402	870	153
2	136	479	219	332	778	334
3	371	302	512	117	134	471
4	720	560	730	522	638	373
5	761	559	321	874	325	614
6	256	310	838	653	162	145
7	574	646	423	215	585	186
8	702	464	666	689	148	420
9	804	814	397	731	562	800
10	674	568	350	867	296	483

campione	PCV2 BM05-22			
	lab2	lab3	lab11	lab16
1	252	897	799	356
2	662	413	628	472
3	578	767	556	549
4	382	221	435	798
5	511	533	806	575
6	888	788	502	119
7	543	267	733	154
8	573	775	207	100
9	400	229	250	307
10	262	357	839	118

## 5 – PRESENTAZIONE ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

### Elaborazioni statistiche

L'analisi dei campioni del circuito fornisce una risposta di tipo qualitativo: positivo o negativo e in alcuni casi la denominazione del positivo. E' importante conoscere la validità di un test, cioè la proporzione di campioni *identificati correttamente* e il Kappa di Cohen è una misura dell'accordo (*coefficient of agreement*) tra le risposte qualitative o categoriali di un laboratorio e del laboratorio di riferimento detto "gold standard" e dei laboratori partecipanti.

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.

A scopo interpretativo, si suggerisce l'utilizzo della scala di Landis & Koch così strutturata:

K	Riproducibilità
$\leq 0$	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

---

## 5.1 - RISULTATI E DISCUSSIONE

Nel 2022, tredici laboratori hanno aderito al circuito interlaboratorio Aqua per le analisi di biologia molecolare (BM) nell'ambito delle specie bovine e suine. Tutti i laboratori hanno fatto pervenire i dati ottenuti che sono stati analizzati come in precedenza descritto. Come prima ricordato, dei problemi nel trasporto per il caldo torrido d'inizio estate hanno causato la richiesta di invio di nuovi pannelli per 2 schemi (2 per BM01/22 e 3 per BM 3/22) da parte di alcuni laboratori dell'Italia meridionale e delle due isole. Al momento della verifica delle cause delle problematiche riscontrate, i 2 pannelli di campioni in questione (BM1/22 e BM3/22) sono stati esaminati nuovamente nel laboratorio preparatore per indagare la presenza di eventuali difformità nella preparazione, nonostante le prove di stabilità avessero dato esito favorevole: tali verifiche non hanno evidenziato anomalie nella fase preparatoria né conservativa dei campioni componenti gli schemi in questione. Pertanto l'analisi delle cause è proseguita nella fase successiva ovvero quella del trasporto, dove è stato acclarato che, nonostante le precauzioni adottate per il mantenimento della corretta temperatura nelle fasi di trasporto, a causa del caldo estivo queste non erano state sufficienti a scongiurare l'innalzamento della temperatura nei contenitori durante il trasporto, provocando la degradazione dei pannelli più delicati (BM01/22 e BM03/22), laddove il tempo di raggiungimento della destinazione finale era stato in effetti più lungo. In particolare, quattro su cinque laboratori hanno richiesto e ricevuto il nuovo pannello nell'arco di tempo dello svolgimento del Circuito interlaboratorio, mentre un solo laboratorio ha acclarato le anomalie di trasporto più tardi, quindi il pannello è stato richiesto oltre il termine di consegna degli esiti ed è stato inviato all'inizio di settembre 2022, quando le temperature erano mitigate. Una volta soddisfatte tutte le richieste, la consegna dei risultati è slittata rispetto alla deadline definita e l'attesa dei nuovi risultati ha rallentato la fase di elaborazione dei dati restituiti.

In genere, una volta ricevuti i dati dai laboratori partecipanti, i risultati grezzi ottenuti complessivamente sono stati controllati e, se necessario, per alcuni campioni e per singola prova, sono state fatte delle considerazioni particolari, riportate nella sezione dei risultati nelle leggende dei grafici.

I risultati sono riportati nelle pagine seguenti, ogni schema è considerato singolarmente. Per ogni prova compaiono tre tabelle e due grafici: nella prima tabella sono indicati i dati grezzi ottenuti da ciascuno dei laboratori partecipanti. In questa tabella, come da legenda, sono evidenziati in rosso le celle con gli esiti discordanti realmente dall'atteso; in bianco le celle con gli esiti concordanti e in giallo quelle con risultati per i quali venga effettuata una valutazione a sé stante. Nella seconda tabella sono riportati tutti i laboratori partecipanti con l'indicazione del valore K appaiato al valore della significatività (p-value) per ciascuno di loro ed infine, nell'ultima colonna a destra, sono mostrati i valori "K e p" complessivi di tutto il circuito. Il grafico esemplificativo mostra l'andamento osservato. Nella terza tabella e nel grafico successivo sono presenti i valori di "K e p" ottenuti dai laboratori delle sezioni territoriali dell'IZS-Ve ed il valore complessivo dell'Istituto stesso con l'andamento rappresentato graficamente. In caso di doppio invio ad un laboratorio, nel calcolo statistico viene incluso quanto restituito dopo analisi del primo invio, per uniformità con i restanti laboratori partecipanti.

**PRRS: ring test per laboratori Circuito Aqua ed IZS-Ve**

**Tabella 1: dati grezzi**

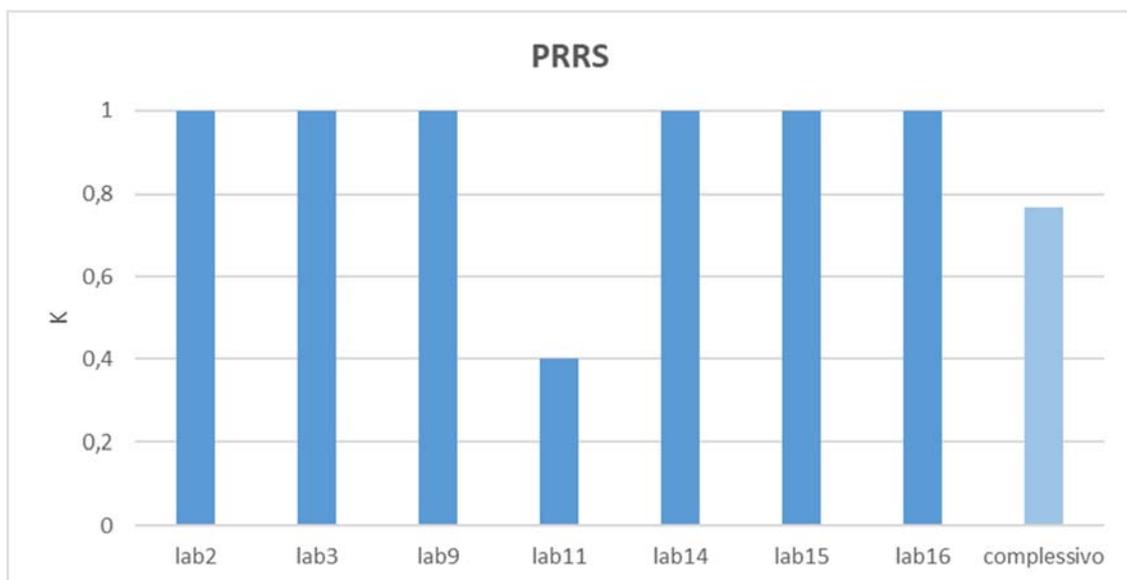
codice lab. /campioni	2	3	9	11	14	15	16
1	pos EU						
2	neg						
3	pos EU						
4	pos AME	pos AME	pos AME	neg	pos AME	pos AME	pos AME
5	pos EU						
6	pos AME	pos AME	pos AME	neg	pos AME	pos AME	pos AME
7	neg						
8	pos EU	pos EU	pos EU	neg	pos EU	pos EU	pos EU
9	pos AME						
10	pos EU						

Esito concorde per tutti i laboratori e con l'atteso.

**Esito discordante dall'atteso.**

**Tabella 2: valori K e p-value per tutti i laboratori partecipanti e complessivo**

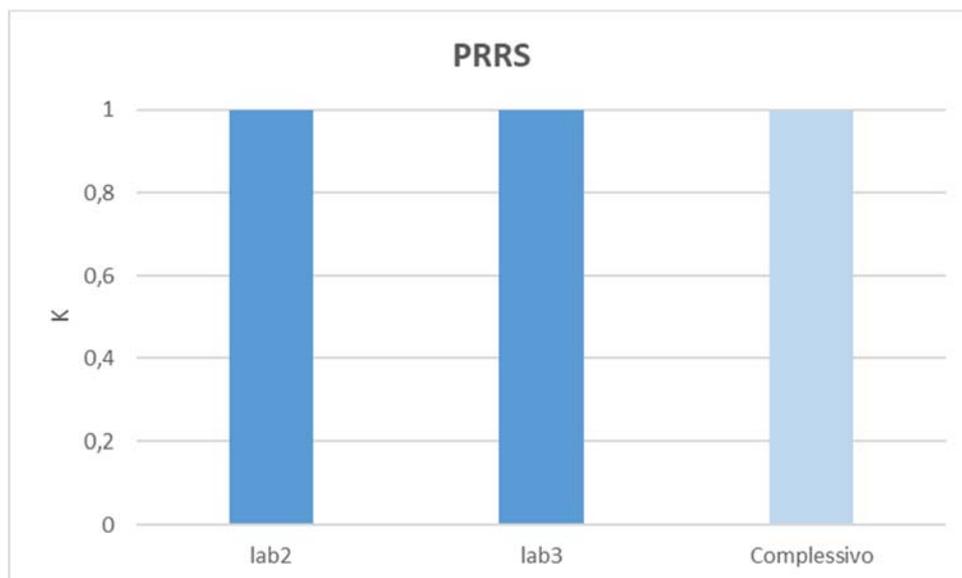
	lab2	lab3	lab9	lab11	lab14	lab15	lab16	Complessivo
<b>Kappa</b>	1	1	1	0,4	1	1	1	0,77
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008	0,0569	0,0008	0,0008	0,0008	0,0000



Tutti i laboratori presentano un K significativo e ottimo ad eccezione del laboratorio 11 che ha manifestato qualche difficoltà nell'identificazione della PRRS tale da valutare l'accordo osservato dovuto al caso ( $p\text{-value} > 0.05$ ). L'accordo complessivo tra i laboratori è buono.

**Tabella 3: valori K e p-value per i laboratori IZSVe**

	lab2	lab3	Complessivo
Kappa	1	1	1
p-value	0.0008	0.0008	0.0008



Tutti i laboratori IZSVe presentano un K significativo e ottimo. L'accordo complessivo tra i laboratori IZSVE è ottimo.

## Neospora caninum: ring test per laboratori Circuito Aqua

Tabella 1: dati grezzi

codice lab. /campioni	2*	10	12	13	18
1	pos	pos	pos	pos	pos
2	pos	pos	pos	pos	pos
3	pos	pos	pos	pos	pos
4	pos	pos	pos	pos	pos
5°	neg NEO, POS TOXO	neg NEO, POS TOXO	neg	neg	neg
6	pos	pos	pos	pos	pos
7	pos	pos	pos	pos	pos
8	neg	neg	neg	neg	neg
9	pos	pos	pos	pos	pos
10	pos	pos	pos	pos	pos

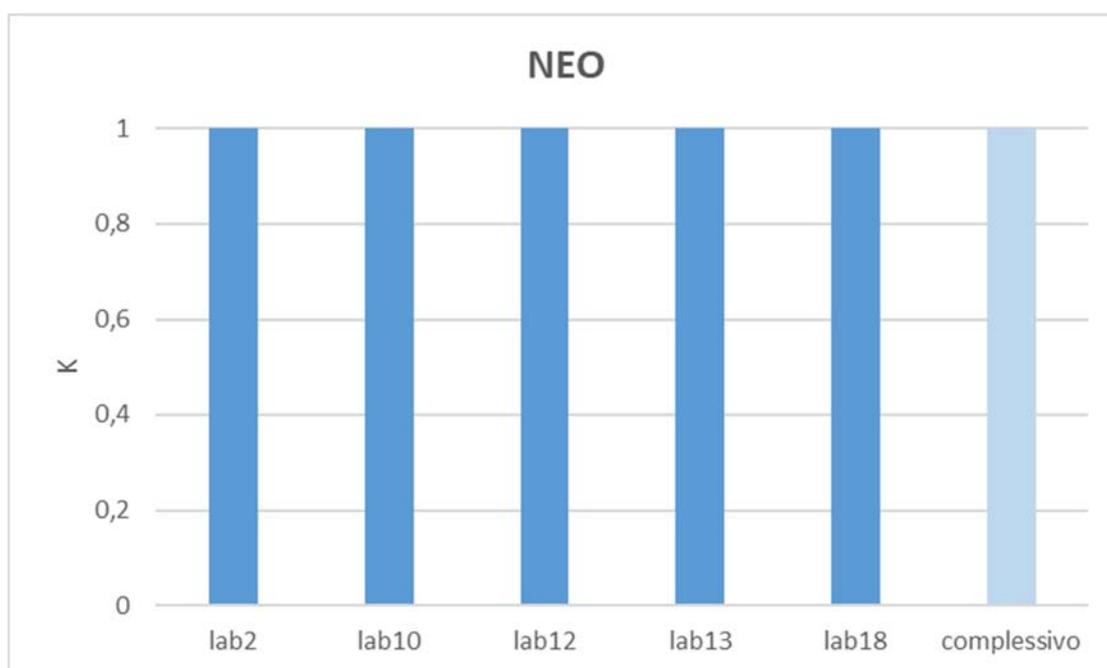
Organo °: positivo Toxoplasma.

\*: operatore estrattore automatico King Fisher Flex (Thermo Fisher).

Esito concorde per tutti i laboratori e con l'atteso.

Tabella 2: valori K e p-value per tutti i laboratori partecipanti

	lab2	lab10	lab12	lab13	lab18	complessivo
<b>Kappa</b>	1	1	1	1	1	1
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0000



Tutti i laboratori hanno un K significativo e un ottimo accordo con l'esito atteso. L'accordo complessivo calcolato su tutti i laboratori è ottimo.

## Coxiella burnetii : ring test per laboratori Circuito Aqua

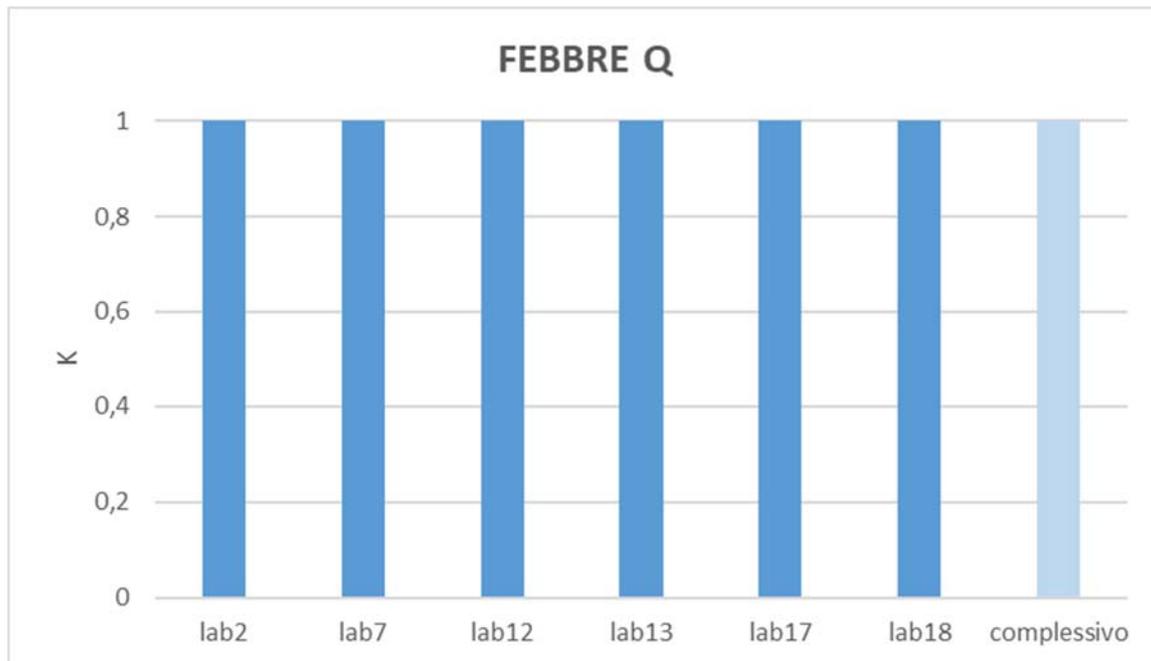
Tabella 1: dati grezzi

codice lab. /campioni	2	7	12	13	17	18
1	pos	pos	pos	pos	pos	pos
2	neg	neg	neg	neg	neg	neg
3	pos	pos	pos	pos	pos	pos
4	neg	neg	neg	neg	neg	neg
5	pos	pos	pos	pos	pos	pos
6	neg	neg	neg	neg	neg	neg
7	pos	pos	pos	pos	pos	pos
8	pos	pos	pos	pos	pos	pos
9	pos	pos	pos	pos	pos	pos
10	pos	pos	pos	pos	pos	pos

Esito concorde per tutti i laboratori e con l'atteso.

Tabella 2: valori K e p-value per tutti i laboratori partecipanti

	lab2	lab7	lab12	lab13	lab17	lab18	complessivo
<b>Kappa</b>	1	1	1	1	1	1	1
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0000



Tutti i laboratori hanno un K significativo e un ottimo accordo con l'esito atteso. L'accordo complessivo calcolato su tutti i laboratori è ottimo.

## Circovirus suino tipo 2: ring test per laboratori Circuito Aqua ed IZS-Ve

Tabella 1: dati grezzi

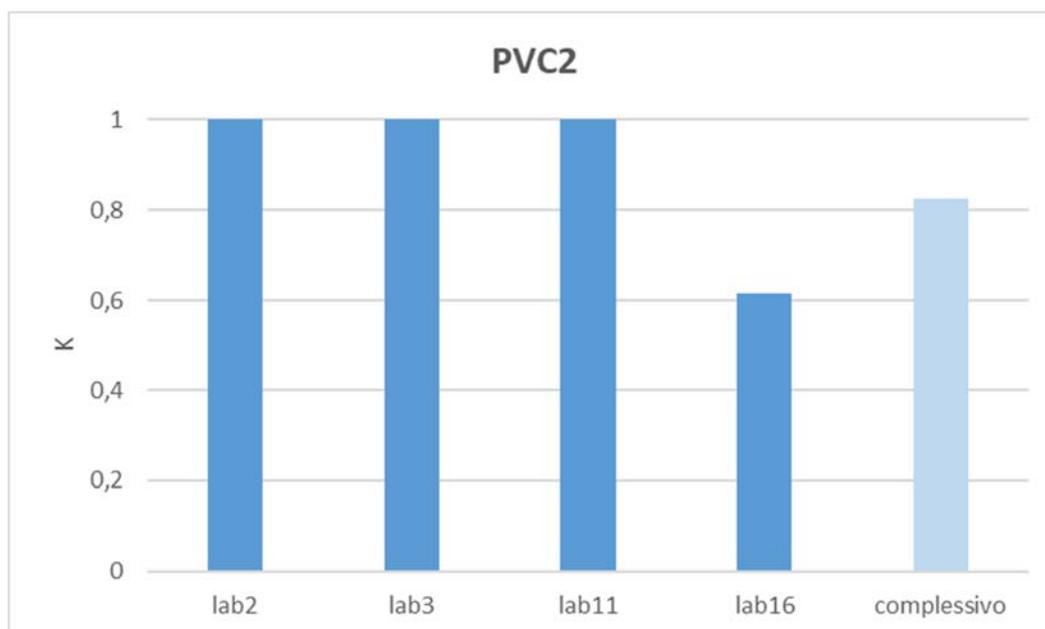
codice lab. /campioni	2	3	11	16
1	pos	pos	pos	pos
2	pos	pos	pos	pos
3	pos	pos	pos	pos
4	neg	neg	neg	dubbio
5	pos	pos	pos	pos
6	pos	pos	pos	pos
7	pos	pos	pos	pos
8	pos	pos	pos	pos
9	neg	neg	neg	neg
10	pos	pos	pos	pos

Esito concorde per tutti i laboratori e con l'atteso.

Esito discordante dall'atteso.

Tabella 2: valori K e p-value per tutti i laboratori partecipanti

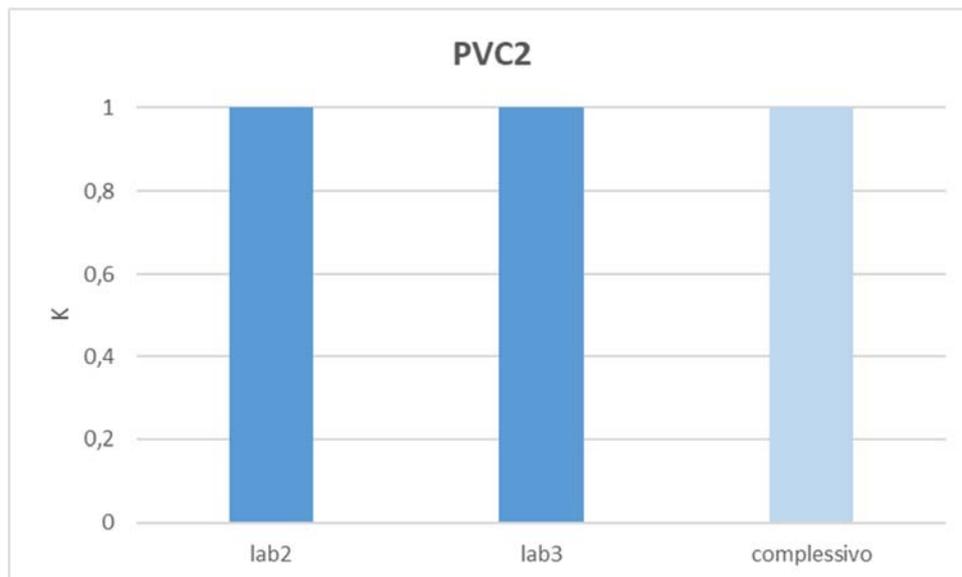
	lab2	lab3	lab11	lab16	complessivo
<b>Kappa</b>	1	1	1	0,6154	0,8268
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008	0,0175	0,0000



Tutti i laboratori presentano un K significativo e ottimo ad eccezione del laboratorio 16 che ha un accordo buono con l'esito atteso. L'accordo complessivo tra i laboratori è ottimo.

**Tabella 3: valori K e p-value per i laboratori IZSVe**

	lab2	lab3	Complessivo
Kappa	1	1	1
p-value	0,0008	0,0008	0,0008



Tutti i laboratori IZSVe presentano un K significativo e ottimo. L'accordo complessivo tra i laboratori IZSVE è ottimo.

## 5.2 - CONCLUSIONI

Come si può evincere dai grafici e dalle tabelle sopra rappresentate, l'andamento degli schemi Aqua 2022 non ha presentato grandi problemi di identificazione corretta dei campioni. Nel caso dei 5 laboratori, che hanno richiesto la ripetizione di alcuni schemi, i problemi di corretta rilevazione sono stati risolti, quasi sempre con l'invio di un secondo schema, eccezion fatta per il laboratorio 11 per lo schema BM 01/22. Relativamente a questo schema, dedicato alla diagnosi del virus della PRRS, il solo lab. 11 ha dimostrato una minore sensibilità per non aver rilevato 3 campioni positivi o per la variante europea o per quella nord-americana del virus della PRRS, tutti costituiti da matrice organo, verosimilmente ascrivibile ad un problema nella fase di estrazione. Queste risultanze sono state tempestivamente comunicate al laboratorio che troverà una soluzione efficace al problema.

Relativamente allo schema (BM05/22) per la diagnosi di circovirus suino di tipo 2, il laboratorio 16 ha manifestato un problema di discordanza in un campione, verosimilmente ascrivibile ad un potenziale fenomeno di cross-contaminazione in fase di estrazione, del tutto casuale e sporadico.

Fatte salve le poche eccezioni descritte in alcuni laboratori partecipanti e considerando l'eterogeneità dei protocolli adottati nei vari laboratori che includono sia kit commerciali che metodi interni e nella maggioranza dei casi tecniche di real time PCR, il trend del Circuito Aqua di biologia molecolare per la diagnostica bovina e suina è comunque positivo per la maggior parte degli schemi proposti con un valore di concordanza complessivo osservato tra i laboratori sempre ottimo, con un'unica eccezione. Nel caso dei laboratori IZSVe l'agreement registrato è sempre ottimo.

## **6 – TERMINI E ABBREVIAZIONI**

PRRSV: virus della sindrome respiratoria e riproduttiva del suino

PCV: circovirus suino tipo 2

pos: positivo

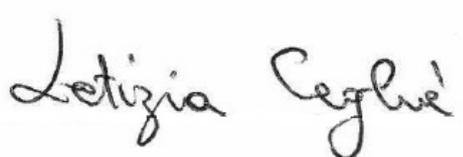
neg: negativo

## **7 – NOTE**

L'organizzatore ha considerato le prove dei laboratori equivalenti tra loro.

### **FINE REPORT DEFINITIVO**

**Data report definitivo 18/05/2023**

A handwritten signature in black ink that reads "Letizia Ceglie". The signature is written in a cursive style with a large initial 'L' and 'C'.

**Responsabile circuito interlaboratorio  
Dr. ssa Letizia Ceglie**