



Circuito interlaboratorio
per l'assicurazione qualità
dei risultati



Circuito diagnostica bovina e suina mediante tecniche biomolecolari
**Report definitivi schemi BM01-23, BM03-23, BM04-23,
BM05-23**
Ottobre 2024



Circuiti interlaboratorio Aqua BM



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

Aqua BM01-23, BM03-23, BM04-23, BM05-23

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

Esperto tecnico:

Dr.ssa Letizia Ceglie

lceglie@izsvenezie.it

049/8084237

Esperto statistico:

Dr.ssa Marzia Mancin

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 (BM1/23)	6
PCR Neospora (BM3/23)	6
<i>Coxiella b.</i> (BM4/23)	7
PCR PCV2 (BM5/23)	3

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: FQ al posto di BM04/23), 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 referenza (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*, dallo scorso 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 ambiente oppure 28 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 qualsiasi delle 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 verificare 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 5 giugno 2023, 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 della 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 **10 luglio 2023**.

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" (BM01/23) contiene 10 provette costituite 5 campioni di omogenati d'organo, 3 di siero e 2 di lisati cellulari infetti.

RT-PCR PRRS	BM01/23	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Cellule infette con ceppo PRRSV NA diluite 1:1000	positivo NA
2	Organo positivo PRRSV NA diluito 1:3	positivo NA
3	Siero positivo PRRSV EU Italian-like diluito 1:20	Positivo EU Italian-like
4	Pool sieri negativi	negativo
5	Organo positivo PRRSV EU diluito 1:2	positivo EU
6	Organo positivo PRRSV EU non diluito	positivo EU
7	Organo di suino negativo	negativo
8	Organo positivo PRRSV EU non diluito	positivo EU
9	Siero positivo PRRSV EU non diluito	positivo EU
10	Cellule infette con ceppo PRRSV EU diluite 1:20	positivo EU

Lo schema "Neospora" (BM03/23) contiene 10 provette: tutti i campioni sono costituiti da omogenati d'organo non diluiti.

PCR Neospora caninum	BM03/23	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Organo bovino positivo NEOSPORA	positivo
2	Organo bovino negativo	negativo
3	Organo bovino positivo NEOSPORA	positivo
4	Organo bovino positivo NEOSPORA	positivo
5	Organo bovino positivo NEOSPORA	positivo
6	Organo bovino positivo NEOSPORA	positivo
7	Organo bovino positivo NEOSPORA	positivo
8	Organo bovino positivo NEOSPORA	positivo
9°	Organo negativo NEOSPORA, positivo TOXOPLASMA	Negativo NEO Positivo TOXO
10	Organo bovino debolmente positivo NEOSPORA	positivo

Organo °: positivo Toxoplasma.

Lo schema "FQ" (BM04/23) 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). In caso durante l'allestimento del pannello i campioni fossero stati diluiti, il rapporto è riportato in tabella.

PCR Coxiella burnetii	BM04/23	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Organo positivo non diluito	Positivo
2	Organo positivo diluito 1:10	Positivo
3	Organo negativo	Negativo

4	Latte di massa bovino positivo non diluito	Positivo
5	Latte di massa bovino positivo non diluito	Positivo
6	Latte di massa bovino positivo non diluito	Positivo
7	Organo positivo non diluito	Positivo
8	Organo positivo diluito 1:20	Positivo
9	Organo positivo non diluito	Positivo
10	Latte di massa bovino negativo	Negativo

Lo schema "PCV2" (BM05/23) contiene 10 provette contenenti campioni costituiti da 2 siero e da 8 omogenati d'organo diluiti e non diluiti.

PCR circovirus tipo 2	BM05/23	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Organo suino positivo diluito 1:2000	positivo
2	Organo suino negativo	negativo
3	Organo suino positivo diluito 1:500	positivo
4	Siero suino positivo diluito 1:2	positivo
5	Organo suino positivo diluito 1:100	positivo
6	Organo suino positivo diluito 1:100	positivo
7	Organo suino positivo diluito 1:200	positivo
8	Pool sieri suini negativi	negativo
9	Organo suino positivo diluito 1:100	positivo
10	Organo suino positivo non diluito	positivo

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 di conservazione riscontrati all'arrivo al laboratorio di destinazione, ma ascrivibili verosimilmente al trasporto, il pannello dello schema BM03-23 è stato inviato 2 volte al laboratorio 10, pertanto la numerazione del pannello del secondo invio è stata modificata.

TABELLE DI DECODIFICA DEI CAMPIONI PER SCHEMA

campione	PRRS BM01-23					
	lab2	lab3	Lab9	lab14	lab15	lab 16
1	735	511	370	288	894	346
2	800	128	595	351	143	727
3	186	291	270	688	238	109
4	770	808	324	779	432	506
5	326	683	492	858	630	648
6	661	821	747	565	510	226

7	284	524	628	118	875	627
8	508	471	207	338	711	443
9	604	317	120	709	206	839
10	490	765	887	421	331	168

campione	NEO BM03-23					
	lab2	lab4	lab8	lab10 (secondo invio)	lab13	lab18
1	540	293	115	199	501	389
2	600	722	573	836	811	605
3	258	136	651	468	104	874
4	748	466	163	382	712	792
5	385	337	235	241	177	141
6	733	658	789	790	203	545
7	879	594	303	430	318	231
8	180	487	417	528	438	493
9	452	856	810	236	680	829
10	225	271	564	673	294	476

campione	FQ BM04-23						
	lab2	Lab4	lab7	lab12	lab13	lab17	lab18
1	561	798	440	344	121	455	313
2	457	127	176	801	323	533	679
3	396	410	752	726	449	624	527
4	622	631	321	126	613	200	766
5	161	598	292	287	761	336	362
6	665	328	512	616	267	864	249
7	743	153	623	214	554	708	437
8	817	237	870	157	890	259	142
9	274	526	499	819	583	167	562
10	514	845	749	103	609	416	880

campione	PCV2 BM05-23		
	lab2	lab15	lab16
1	134	220	596
2	637	169	219
3	332	740	368
4	656	777	769
5	212	327	823
6	386	610	620
7	285	850	375
8	436	724	135
9	537	124	674
10	776	699	422

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. È 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
≤ 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 2023, quattordici 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 ricordato al paragrafo 4, alcuni problemi verosimilmente legati al periodo del trasporto hanno causato la richiesta di invio di un nuovo pannello per uno schema, precisamente il BM 3/23 da parte del laboratorio 10. Il pannello BM3/23 esaminato nuovamente prima della seconda spedizione per una verifica dello stato di conservazione non ha presentato discordanze rispetto all'atteso, evidenziando che non c'erano state anomalie nella fase preparatoria né conservativa dei campioni componenti lo schema in questione prima della spedizione. Pertanto, è stato deciso che per la prossima edizione del circuito interlaboratorio Aqua BM, sarà identificato a livello commerciale un conservante degli acidi nucleici che potrebbe essere usato come diluente dei campioni che compongono i vari schemi, in grado di preservarli durante il trasporto e la conservazione presso il laboratorio destinatario fino allo svolgimento delle analisi.

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

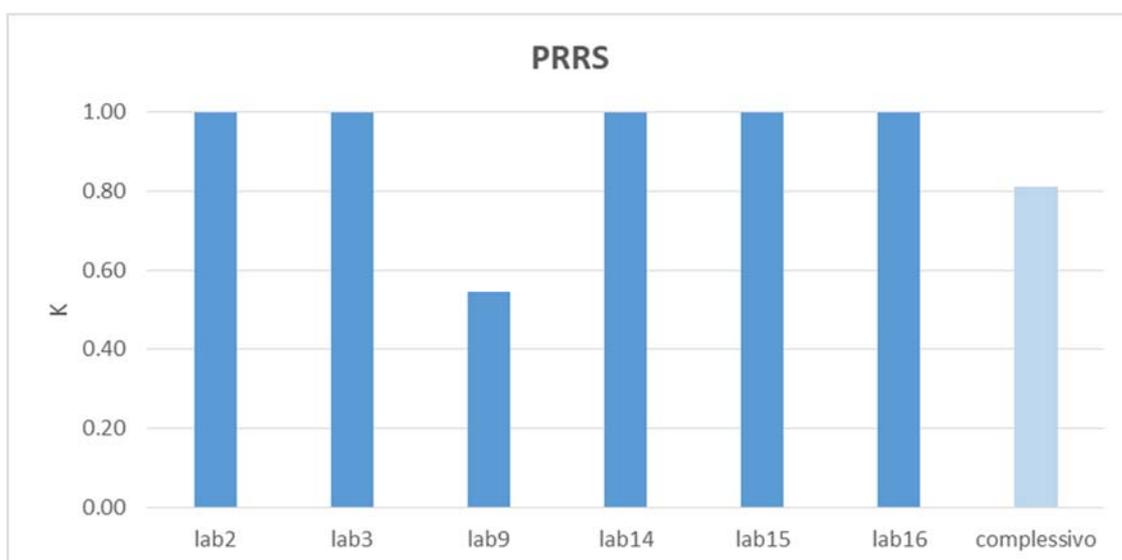
codice lab. /campioni	2	3	9	14	15	16
1	positivo NA					
2	positivo NA	positivo NA	negativo	positivo NA	positivo NA	positivo NA
3	Positivo EU Italian-like					
4	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
5	positivo EU					
6	positivo EU	positivo EU	negativo	positivo EU	positivo EU	positivo EU
7	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
8	positivo EU					
9	positivo EU					
10	positivo 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

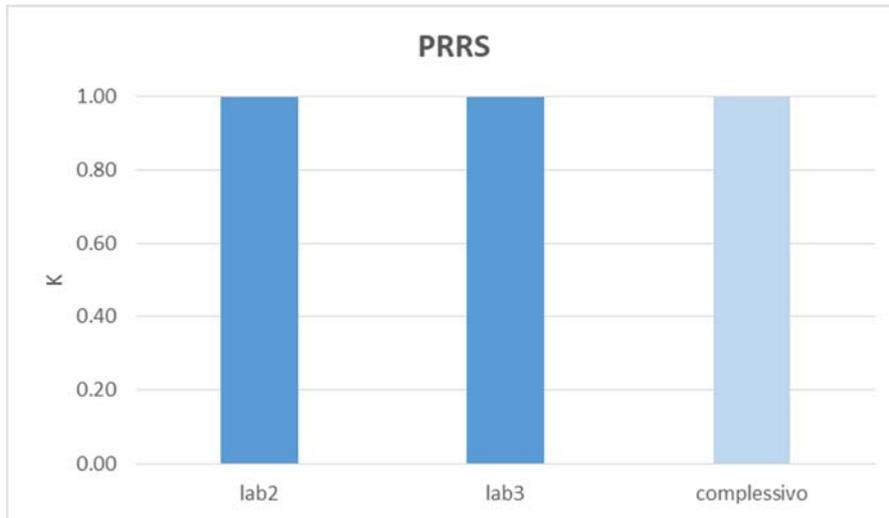
	lab2	lab3	lab9	lab14	lab15	lab16	complessivo
K	1.0000	1.0000	0.5455	1.0000	1.0000	1.0000	0.8137
p-value	0.0008	0.0008	0.0264	0.0008	0.0008	0.0008	0.0000



Tutti i laboratori presentano un K significativo e ottimo ad eccezione del laboratorio 9 che ha manifestato qualche difficoltà nell'identificazione della PRRS tale da valutare l'accordo moderato. L'accordo complessivo tra i laboratori è comunque 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.

Neospora caninum: ring test per laboratori Circuito Aqua ed IZS-Ve

Tabella 1: dati grezzi

codice lab. /campioni	2*	4	8	10	13	18
1	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
2	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
3	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
4	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
5	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
6	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
7	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
8	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
9°	Negativo (Toxo)	neg NEO, POS ATOXO	Negativo (Toxo)	Negativo (Toxo)	Negativo (Toxo)	Negativo (Toxo)
10	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo

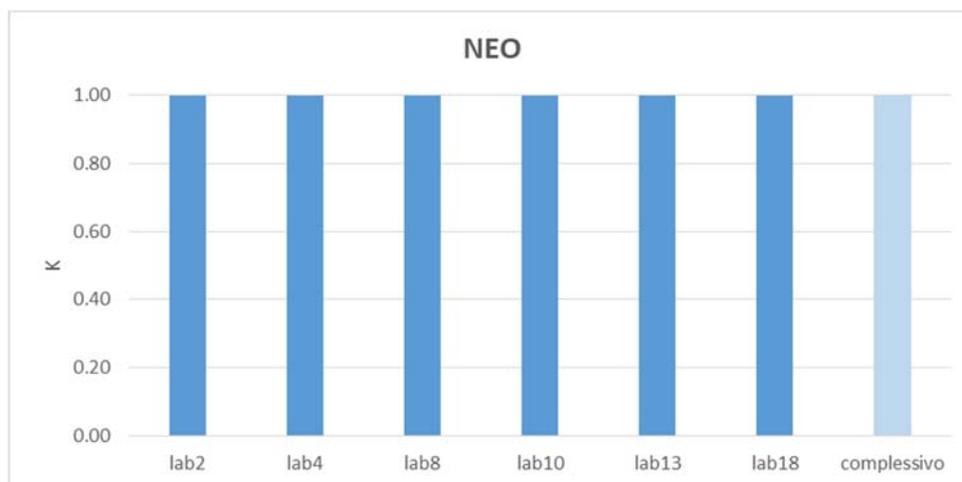
Organo °: positivo Toxoplasma.

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

Esito concorde per tutti i laboratori e con l'atteso. Il risultato ottenuto dal laboratorio 4 per il campione n.9, seppure apparentemente discordante dall'atteso, è da considerarsi accettabile, poiché il risultato è congruente con l'atteso ovvero l'assenza di *Neospora caninum*, mentre non è corretta la determinazione di una specie diversa che si considera come opzionale, in quanto non prevista dal circuito.

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

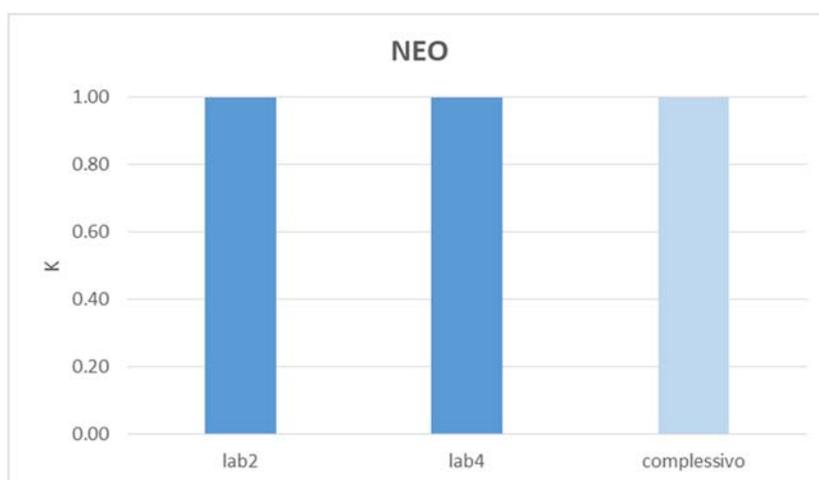
	lab2	lab4	lab8	lab10	lab13	lab18	complessivo
K	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
p-value	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0000



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.

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

	lab2	lab4	complessivo
K	1.0000	1.0000	1.0000
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.

Coxiella burnetii : ring test per laboratori Circuito Aqua ed IZS-Ve

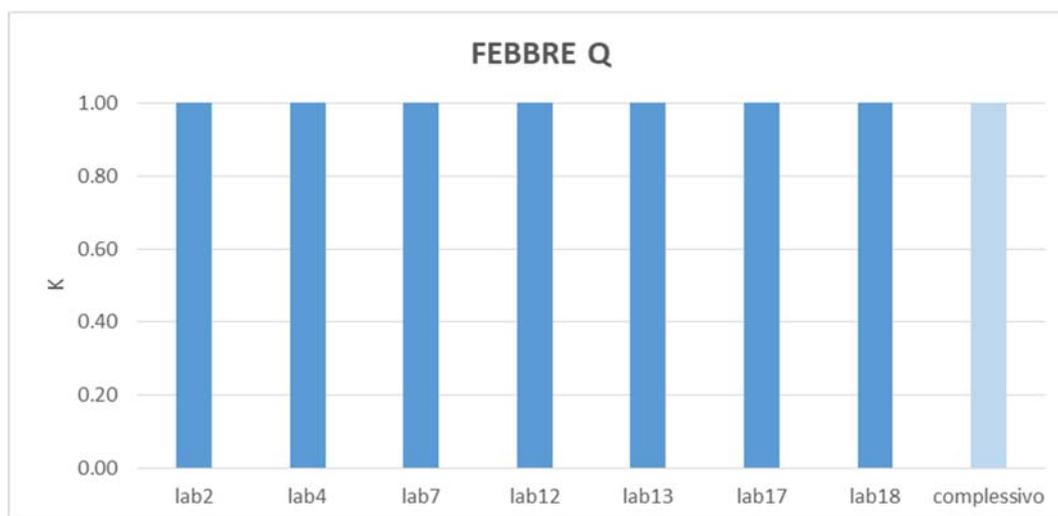
Tabella 1: dati grezzi

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

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

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

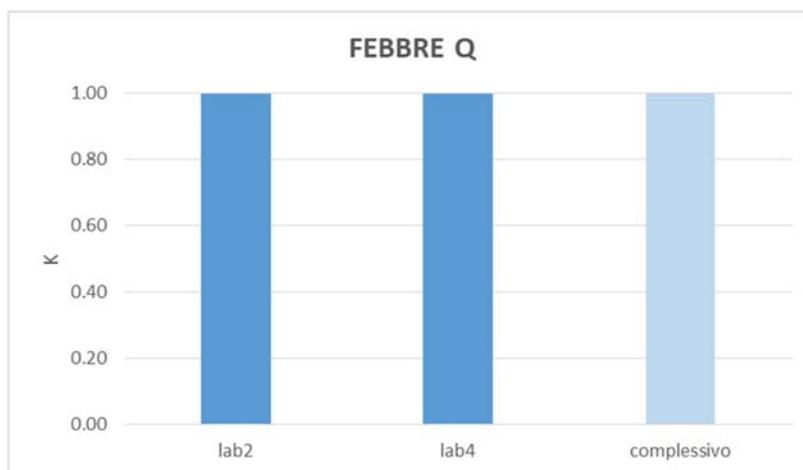
	lab2	lab4	lab7	lab12	lab13	lab17	lab18	complessivo
K	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
p-value	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0000



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.

Tabella 3: valori K e p-value per i laboratori IZS-Ve

	lab2	lab4	complessivo
K	1.0000	1.0000	1.0000
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.

Circovirus suino tipo 2: ring test per laboratori Circuito Aqua

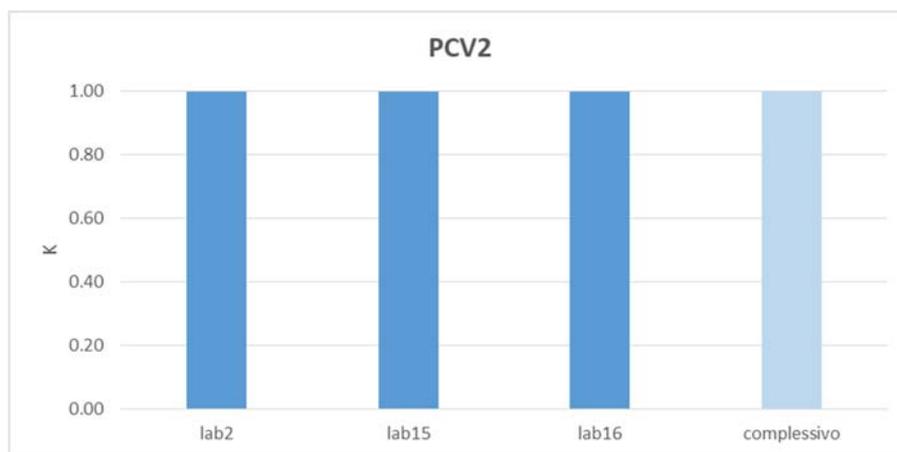
Tabella 1: dati grezzi

codice lab. /campioni	2	15	16
1	positivo	positivo	positivo
2	negativo	negativo	negativo
3	positivo	positivo	positivo
4	positivo	positivo	positivo
5	positivo	positivo	positivo
6	positivo	positivo	positivo
7	positivo	positivo	positivo
8	negativo	negativo	negativo
9	positivo	positivo	positivo
10	positivo	positivo	positivo

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

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

	lab2	lab15	lab16	complessivo
K	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
p-value	0.0008	0.0008	0.0008	0.0000



Tutti i laboratori presentano un K significativo e ottimo.

5.2 - CONCLUSIONI

Come si può evincere dai grafici e dalle tabelle sopra rappresentate, l'andamento degli schemi Aqua 2023 non ha rilevato problemi di identificazione corretta dei campioni, tranne per un laboratorio soltanto e nel caso dello schema per la determinazione della presenza del virus della PRRS. Relativamente a questo riscontro, il laboratorio ha dimostrato una minore sensibilità poiché non ha rilevato 2 campioni positivi uno per la variante europea e uno per quella nord-americana del virus della PRRS, costituiti da matrice organo, ascrivibile ad un problema verosimilmente verificatosi nella fase di estrazione.

Fatta salva questa eccezione, comunicata al laboratorio interessato ad agosto 2023 con l'invio del report parziale, pur considerando l'eterogeneità dei protocolli adottati nei diversi laboratori partecipanti, che includono sia kit commerciali che metodi interni, ma prevalentemente tecniche di real time PCR, il trend del Circuito Aqua di biologia molecolare per la diagnostica bovina e suina è 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. Per questa ragione e nell'ottica di un mantenimento del servizio a condizioni economiche contenute, a partire dal 2023 gli schemi del Circuito Aqua (BM) di biologia molecolare per la diagnostica bovina e suina saranno proposti ogni due anni.

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 4/10/2024

Responsabile circuito interlaboratorio
Dr. ssa Letizia Ceglie