



Circuito interlaboratorio
per l'assicurazione qualità
dei risultati



Circuito di Virologia, Sierologia e Biologia molecolare per
l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle

Report definitivo Schemi IN-V 1-23, IN-S 1- 23, IN-M 1-23

Anno erogazione 2023

Responsabile Circuito interlaboratorio AQUA Influenza aviaria e malattia di Newcastle (AQUA IN)
Dr. Calogero Terregino *Tel. 049 8084377*
e-mail cterregino@izsvenezie.it

Responsabile tecnico (schemi IN-V e IN-S)
Sig.ra Crispina Veggiato *Tel. 049 8084375*
e-mail cveggiato@izsvenezie.it

Responsabile tecnico (schema IN-M)
Dr.ssa Viviana Valastro *Tel. 049 8084118*
e-mail: vvalastro@izsvenezie.it

Responsabile statistico
Dr.ssa Marzia Mancin *Tel. 049 8084431*
e-mail mmancin@izsvenezie.it

Segreteria
Dr.ssa Paola Mozzi *Tel. 049 8084371-369*
e-mail pmozzi@izsvenezie.it

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Centro di Referenza Nazionale per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle
V.le dell'Università 10 – 35020 LEGNARO (PD)
www.izsvenezie.it

Sommario

Introduzione	4
1. Caratteristiche, composizione e controllo dei campioni prova	5
1.1 Composizione dei campioni prova	5
1.2 Prove di omogeneità e stabilità	5
2. Preparazione e utilizzo dei campioni prova	6
3. Valori assegnati	6
4. Valutazione statistica dei risultati	6
5. Partecipanti	8
6. Analisi dei risultati	9
6.1 Schema AQUA IN-V	9
6.2 Schema AQUA IN-S	20
6.3 Schema AQUA IN-M	34
7. Discussione dei risultati	52
7.1 Schema AQUA IN-V	52
7.2 Schema AQUA IN-S	52
7.3 Schema AQUA IN-M	52
8. Conclusioni	53
9. Informativa sulla privacy	53



Report definitivo

Introduzione

Il circuito interlaboratorio AQUA IN “Virologia, Sierologia e Biologia molecolare per l’influenza aviaria e la malattia di Newcastle” è organizzato dal Centro di Referenza Nazionale (CRN) per l’influenza aviaria e la malattia di Newcastle con l’obiettivo di valutare - e migliorare, se necessario - la capacità dei laboratori partecipanti di diagnosticare le infezioni provocate da virus responsabili delle malattie specificate.

Il circuito AQUA IN consiste di tre diversi schemi qualitativi erogati simultaneamente e progettati per le seguenti rilevazioni specifiche:

- IN-V 1-23 “Identificazione di antigeni emoagglutinanti ottenuti da virus dell’influenza aviaria (influenza tipo A) e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)”;
- IN-S 1-23 “Identificazione di anticorpi specifici dei virus influenzali di tipo A, specifici sottotipi del virus dell’influenza aviaria e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)”;
- IN-M 1-23 “Identificazione del genoma di virus dell’influenza aviaria (influenza tipo A) e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)”.

All’edizione 2023 del circuito AQUA IN hanno partecipato tutti i laboratori appartenenti alla rete di sorveglianza nazionale per l’influenza aviaria e la malattia di Newcastle e facenti capo a dieci (10) Istituti Zooprofilattici e tre (3) laboratori privati (Tabella 3). In dettaglio, dieci (10) laboratori hanno aderito allo schema AQUA IN-V, tredici (13) allo schema AQUA IN-S e diciassette (17) allo schema AQUA IN-M.

Tutti i partecipanti iscritti hanno inviato i propri risultati nel rispetto del termine stabilito.

In data 12/06/2023 è stato pubblicato in AQUAWEB, all’interno dell’area riservata di ciascun laboratorio, il report parziale contenente esclusivamente l’esito atteso, con successivo emendamento nella stessa data.

Il presente report mostra i risultati dei laboratori partecipanti che sono stati classificati come corretti o non corretti in base ai valori assegnati dall’organizzatore. Per misurare le prestazioni del laboratorio è stata applicata la statistica basata sul K e il relativo valore di significatività. Al fine di mantenere la riservatezza, nel presente documento i risultati di ogni laboratorio partecipante sono identificati tramite un codice alfanumerico, assegnato a ciascuno di essi al momento della registrazione e conosciuto solo dal laboratorio stesso e dall’organizzatore.

Tutti gli operatori dell’Organizzazione del circuito interlaboratorio sono tenuti alla riservatezza sia relativamente alla identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

1. Caratteristiche, composizione e controllo dei campioni prova

1.1 Composizione dei campioni prova

Schema IN-V: antigeni prodotti a partire da matrici virali fatte crescere in uova embrionate di pollo SPF e inattivati con beta-propiolattone alla diluizione 1:2000 secondo protocollo interno.

Schema IN-S: sieri ottenuti previa immunizzazione di polli SPF allocati in isolatori BSL3 e inoculati con un'emulsione virale al 12% in adiuvante di Freund completo o equivalente secondo protocollo interno.

Schema IN-M: virus prodotti da matrici virali fatte crescere in uova embrionate di pollo SPF e inattivati usando un terreno di trasporto commerciale con proprietà conservanti.

I campioni prova per gli schemi IN-V e IN-S sono stati forniti liofilizzati. I campioni per lo schema IN-M si trovavano allo stato liquido.

Tabella 1. Descrizione dei campioni prova, dei misurandi valutabili e delle tecniche di prova utilizzabili per ogni schema del circuito AQUA IN.

SCHEMA	AQUA IN-V	AQUA IN-S	AQUA IN-M
MATRICE	Liquido allantoideo di pollo SPF	Siero ematico di pollo SPF	Liquido allantoideo di pollo SPF
MISURANDO	Identificazione di antigeni emoagglutinanti ottenuti da virus dell'influenza aviaria (Alphainfluenzavirus /influenza A virus) e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)	Identificazione di anticorpi specifici contro influenza A virus, di specifici sottotipi del virus dell'influenza aviaria e di Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)	Identificazione del genoma di virus dell'influenza aviaria (Alphainfluenzavirus/influenza A virus) e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)
TECNICA DI PROVA	HA e HI	HI, ELISA e/o AGID	RT-PCR e/o real time RT-PCR
ID CAMPIONE	Da V1 a V12	Da S1 a S12	Da M1 a M15

1.2 Prove di omogeneità e stabilità

Per le prove di omogeneità e stabilità sono state applicate le tecniche di prova elencate in Tabella 1 e le PDP di riferimento per influenza aviaria e malattia di Newcastle pubblicate sul sito IZSve del Centro di Referenza al seguente indirizzo <https://www.izsvenzie.it/temi/malattie-patogeni/influenzaaviaria/procedure-prova/>

I campioni prova sono risultati essere omogenei e stabili in quanto gli esiti ottenuti durante le prove erano in perfetto accordo con i risultati attesi. Le informazioni relative alle prove di stabilità e omogeneità sono disponibili, su richiesta, presso l'organizzatore.

2. Preparazione e utilizzo dei campioni prova

I campioni prova del pannello virologico e sierologico sono stati inviati liofilizzati e ciascuno di essi doveva essere ricostituito, in accordo alle istruzioni fornite, in 1 ml di acqua distillata sterile poco prima di eseguire le analisi. I campioni prova del pannello molecolare sono stati conferiti diluiti in un terreno di trasporto commerciale con proprietà inattivanti e conservanti e sono pronti all'uso. Per ulteriori specifiche si rimanda alle indicazioni riportate in Aquaweb, all'interno dell'area riservata di ciascun laboratorio.

Per la ricerca dei misurandi, il partecipante poteva applicare un metodo a sua scelta tra quelli previsti dalla Decisione della Commissione 2006/437/CE (tecnicamente ancora valida come riferimento per le prove diagnostiche per l'influenza aviaria) e nei capitoli 3.3.4 e 3.3.14 del Manuale Diagnostico WOA (ex OIE) sull'influenza aviaria e la malattia di Newcastle.

L'esecuzione delle prove doveva svolgersi nel periodo compreso tra il 04/04/2023 e il 05/06/2023, data fissata come termine ultimo per la restituzione dei risultati delle analisi sui campioni.

3. Valori assegnati

Per le prove qualitative del circuito AQUA IN, il valore assegnato coincide con il valore atteso definito dall'organizzatore in quanto derivante dalla conoscenza della preparazione dei campioni prova o dall'utilizzo di materiale di riferimento.

Non sono fornite statistiche di sintesi come media e/o deviazione standard di risultati indicanti proprietà qualitative e informazioni quantitative in merito all'incertezza del valore assegnato in quanto non appropriate a questa tipologia di circuito. Analogamente, non sono previste procedure statistiche per l'identificazione e la gestione di valori anomali ed errori grossolani.

4. Valutazione statistica dei risultati

a) Valutazione di ogni laboratorio per misurando

Per ogni misurando, l'esito di presenza/assenza fornito da ciascun partecipante è stato confrontato con il valore assegnato. La performance del partecipante è stata quindi valutata in termini di concordanza con il valore assegnato nei seguenti modi:

- 1) Percentuale di risposte corrette attribuendo valore 1 se l'esito trasmesso coincideva con il valore assegnato e 0 altrimenti. Nel caso in cui il laboratorio non avesse analizzato uno o più campioni rispetto ad un determinato misurando (esito NE = analisi non eseguita o esito assente), percentuale di risposte corrette pesata per la percentuale di esiti trasmessi su quelli attesi.
- 2) Statistica K di Cohen e relativa significatività per valutare la concordanza con il valore assegnato, depurata dall'effetto casuale. 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. Per l'interpretazione dei valori del K di Cohen si rimanda alla scala di Landis & Koch (Tabella 2).

b) Valutazione complessiva per misurando

Per ogni misurando è stata calcolata la concordanza nella tipologia di risposta tra i laboratori che hanno eseguito la prova applicando la statistica K di Fleiss (estensione della K di Cohen per $m > 2$

partecipanti). Tale valore restituisce una valutazione complessiva dello svolgimento della prova. Per l'interpretazione della statistica K di Fleiss si rimanda alla scala di Landis & Koch (Tabella 2).

c) Valutazione di ogni laboratorio per schema

Per ciascun laboratorio, le performance complessive rispetto ad ogni schema sono state determinate come al punto a) e tenendo conto dei soli misurandi per i quali il laboratorio ha trasmesso l'esito.

d) Valutazione individuale e complessiva dei campioni prova

La percentuale di successo, data dal numero di risultati in accordo con i valori assegnati sul numero totale di risultati riportati, è stata calcolata per ciascun campione rispetto ad ogni misurando e per ciascun set di campioni rispetto ad ogni misurando e ogni schema. Tale valore restituisce una misura dell'accuratezza e del grado di difficoltà riscontrato nell'analizzare i campioni.

Tabella 2. Scala di Landis & Koch.

K	Concordanza
≤ 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. Partecipanti

La Tabella 3 elenca i venti (20) laboratori appartenenti alla rete di sorveglianza nazionale per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle e facenti capo a dieci (10) Istituti Zooprofilattici e tre (3) laboratori privati che hanno aderito al circuito AQUA IN nell'edizione del 2023.

Tabella 3. Laboratori partecipanti.

Agricola Tre Valli - Verona (Lab. Biologia Molecolare)
Gesco Consorzio Cooperativo - Brescia
IZSM - Sede centrale di Portici (Napoli)
IZSM - Sezione di Catanzaro (UOS Diagnostica)
IZSM - Sezione di Catanzaro (Lab. Sierologia)
IZS Sardegna - Sede centrale di Sassari
IZS Sicilia - Sede centrale di Palermo
IZSAM - Sede centrale di Teramo
IZSLER - Sede centrale di Brescia
IZSLER - Sezione di Forlì
IZSLER - Sezione di Lugo (Ravenna)
IZSLER - Sezione di Mantova
IZSLER - Sezione di Parma
IZSLT - Sede centrale di Roma
IZSPB - Sede centrale di Foggia
IZSPLV - Sede centrale di Torino
IZSUM - Sede centrale di Perugia (Lab. Sierologia)
IZSUM - Sede centrale di Perugia (Lab. Virologia)
IZSVe - Sezione di Verona
Vallerana Srl - Cremona

6. Analisi dei risultati

6.1 Schema AQUA IN-V

Tabella 4. Risultati dell'identificazione di antigeni emoagglutinanti del virus dell'influenza aviaria specifici per il sottotipo H5 (AQUA IN-V).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Titolo in HA*	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544
V1	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO
V2	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V3	H5N1	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 (HPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI
V4	H7N8	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 (LPAI)	1:64	NO	NO	NO	NO	NO
V5	APMV-1	NDV V4 vaccine-like	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
V6	APMV-1	PPMV-1/pigeon/Belgium/2449_22VIR1107-27/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V7	H5N3	A/mallard/Italy/20VIR4911-83/2020 (LPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI
V8	APMV-1	APMV-1/chicken/Vushtrri-Kosovo/94_21VIR5162-29/2021	1:512	NO	NO	NO	NO	NO
V9	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020 (HPAI)	1:256	SI	SI	SI	SI	SI
V10	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V11	-	Negativo	1:2	NO	NO	NO	NO	NO
V12	H3N8	A/duck/Ireland/PV21-020707_21VIR7049-6/2021	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

* Valore della moda dei titoli HA ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione di antigene che provoca la completa agglutinazione degli eritrociti.

Tabella 4 (continuazione). Risultati dell'identificazione di antigeni emoagglutinanti del virus dell'influenza aviaria specifici per il sottotipo H5 (AQUA IN-V).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Titolo in HA*	L000546	L000548	L000549	L000552	L000637
V1	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO
V2	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V3	H5N1	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 (HPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI
V4	H7N8	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 (LPAI)	1:64	NO	NO	NO	NO	NO
V5	APMV-1	NDV V4 vaccine-like	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
V6	APMV-1	PPMV-1/pigeon/Belgium/2449_22VIR1107-27/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V7	H5N3	A/mallard/Italy/20VIR4911-83/2020 (LPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI
V8	APMV-1	APMV-1/chicken/Vushtrri-Kosovo/94_21VIR5162-29/2021	1:512	NO	NO	NO	NO	NO
V9	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020 (HPAI)	1:256	SI	SI	SI	SI	SI
V10	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V11	-	Negativo	1:2	NO	NO	NO	NO	NO
V12	H3N8	A/duck/Ireland/PV21-020707_21VIR7049-6/2021	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

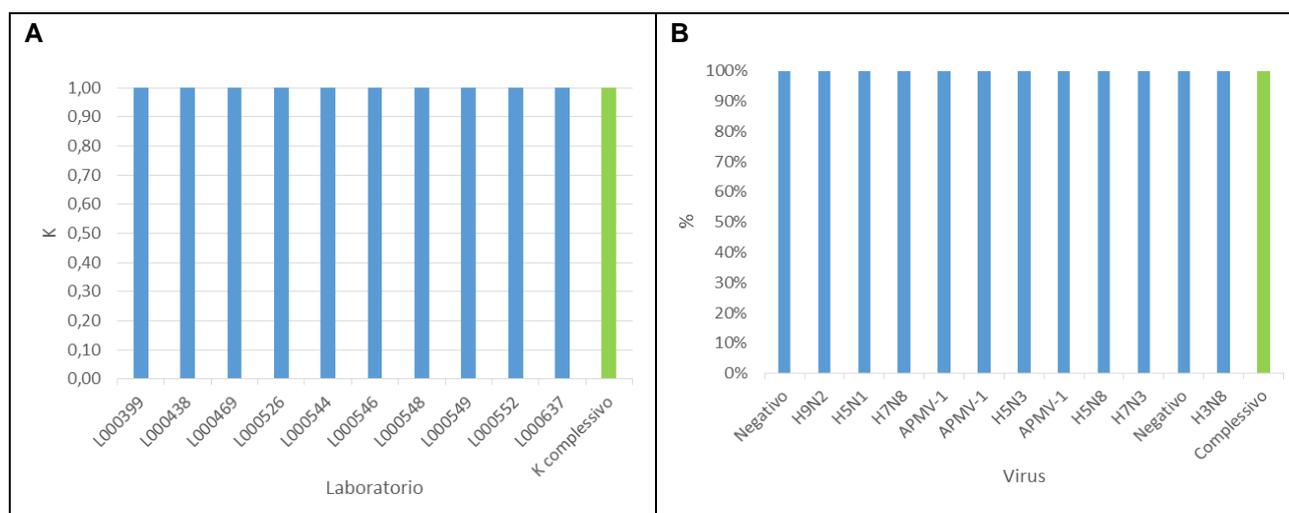
 Risultato errato.

* Valore della moda dei titoli HA ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione di antigene che provoca la completa agglutinazione degli eritrociti.

Tabella 5. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando AIV-H5 dello schema AQUA IN-V.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
100,00%	1,00	0,00

Figura 1. Analisi dei risultati per il misurando AIV-H5 dello schema AQUA IN-V. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



I dieci (10) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza di virus influenzali di sottotipo H5 nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). Pertanto, i risultati complessivi sono 100% accurati e la concordanza dei risultati dei partecipanti è ottima ($K=1$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Tabella 6. Risultati dell'identificazione di antigeni emoagglutinanti del virus dell'influenza aviaria specifici per il sottotipo H7 (AQUA IN-V).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Titolo in HA*	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544
V1	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO
V2	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V3	H5N1	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 (HPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V4	H7N8	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 (LPAI)	1:64	SI	SI	SI	SI	SI
V5	APMV-1	NDV V4 vaccine-like	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
V6	APMV-1	PPMV-1/pigeon/Belgium/2449_22VIR1107-27/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V7	H5N3	A/mallard/Italy/20VIR4911-83/2020 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V8	APMV-1	APMV-1/chicken/Vushtrri-Kosovo/94_21VIR5162-29/2021	1:512	NO	NO	NO	NO	NO
V9	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020 (HPAI)	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
V10	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI
V11	-	Negativo	1:2	NO	NO	NO	NO	NO
V12	H3N8	A/duck/Ireland/PV21-020707_21VIR7049-6/2021	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

■ Risultato errato.

* Valore della moda dei titoli HA ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione di antigene che provoca la completa agglutinazione degli eritrociti.

Tabella 6 (continuazione). Risultati dell'identificazione di antigeni emoagglutinanti del virus dell'influenza aviaria specifici per il sottotipo H7 (AQUA IN-V).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Titolo in HA*	L000546	L000548	L000549	L000552	L000637
V1	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO
V2	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V3	H5N1	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 (HPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V4	H7N8	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 (LPAI)	1:64	SI	SI	SI	SI	SI
V5	APMV-1	NDV V4 vaccine-like	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
V6	APMV-1	PPMV-1/pigeon/Belgium/2449_22VIR1107-27/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V7	H5N3	A/mallard/Italy/20VIR4911-83/2020 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V8	APMV-1	APMV-1/chicken/Vushtrri-Kosovo/94_21VIR5162-29/2021	1:512	NO	NO	NO	NO	NO
V9	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020 (HPAI)	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
V10	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI
V11	-	Negativo	1:2	NO	NO	NO	NO	NO
V12	H3N8	A/duck/Ireland/PV21-020707_21VIR7049-6/2021	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

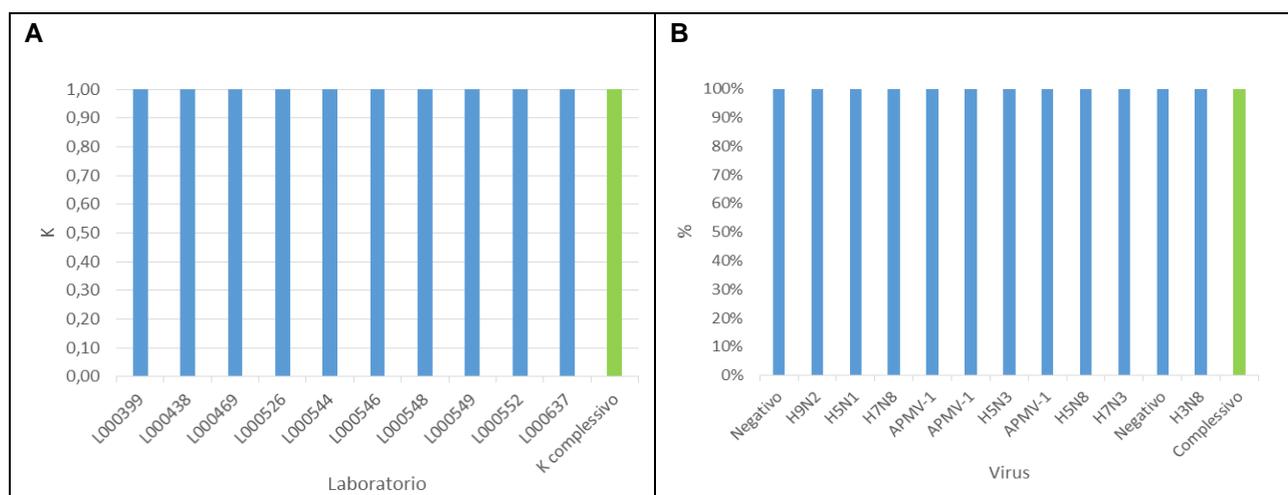
 Risultato errato.

* Valore della moda dei titoli HA ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione di antigene che provoca la completa agglutinazione degli eritrociti.

Tabella 7. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando AIV-H7 dello schema AQUA IN-V.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
100,00%	1,00	0,00

Figura 2. Analisi dei risultati per il misurando AIV-H7 dello schema AQUA IN-V. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



I dieci (10) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza di virus influenzali di sottotipo H7 nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). Pertanto, i risultati complessivi sono 100% accurati e la concordanza dei risultati dei partecipanti è ottima ($K=1$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Tabella 8. Risultati dell'identificazione di antigeni emoagglutinanti di paramyxovirus aviari di tipo 1 (AQUA IN-V).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Titolo in HA*	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544
V1	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO
V2	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V3	H5N1	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 (HPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V4	H7N8	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 (LPAI)	1:64	NO	NO	NO	NO	NO
V5	APMV-1	NDV V4 vaccine-like	1:256	SI	SI	SI	SI	SI
V6	APMV-1	PPMV-1/pigeon/Belgium/2449_22VIR1107-27/2021	1:128	SI	SI	SI	SI	SI
V7	H5N3	A/mallard/Italy/20VIR4911-83/2020 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V8	APMV-1	APMV-1/chicken/Vushtrri-Kosovo/94_21VIR5162-29/2021	1:512	SI	SI	SI	SI	SI
V9	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020 (HPAI)	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
V10	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V11	-	Negativo	1:2	NO	NO	NO	NO	NO
V12	H3N8	A/duck/Ireland/PV21-020707_21VIR7049-6/2021	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

* Valore della moda dei titoli HA ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione di antigene che provoca la completa agglutinazione degli eritrociti.

Tabella 8 (continuazione). Risultati dell'identificazione di antigeni emoagglutinanti di paramyxovirus aviari di tipo 1 (AQUA IN-V).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Titolo in HA*	L000546	L000548	L000549	L000552	L000637
V1	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO
V2	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V3	H5N1	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 (HPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V4	H7N8	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 (LPAI)	1:64	NO	NO	NO	NO	NO
V5	APMV-1	NDV V4 vaccine-like	1:256	SI	SI	SI	SI	SI
V6	APMV-1	PPMV-1/pigeon/Belgium/2449_22VIR1107-27/2021	1:128	SI	SI	NO	SI	SI
V7	H5N3	A/mallard/Italy/20VIR4911-83/2020 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V8	APMV-1	APMV-1/chicken/Vushtrri-Kosovo/94_21VIR5162-29/2021	1:512	SI	SI	SI	SI	SI
V9	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020 (HPAI)	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
V10	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO
V11	-	Negativo	1:2	NO	NO	NO	NO	NO
V12	H3N8	A/duck/Ireland/PV21-020707_21VIR7049-6/2021	1:256	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	11	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	91,67	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	0,75	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

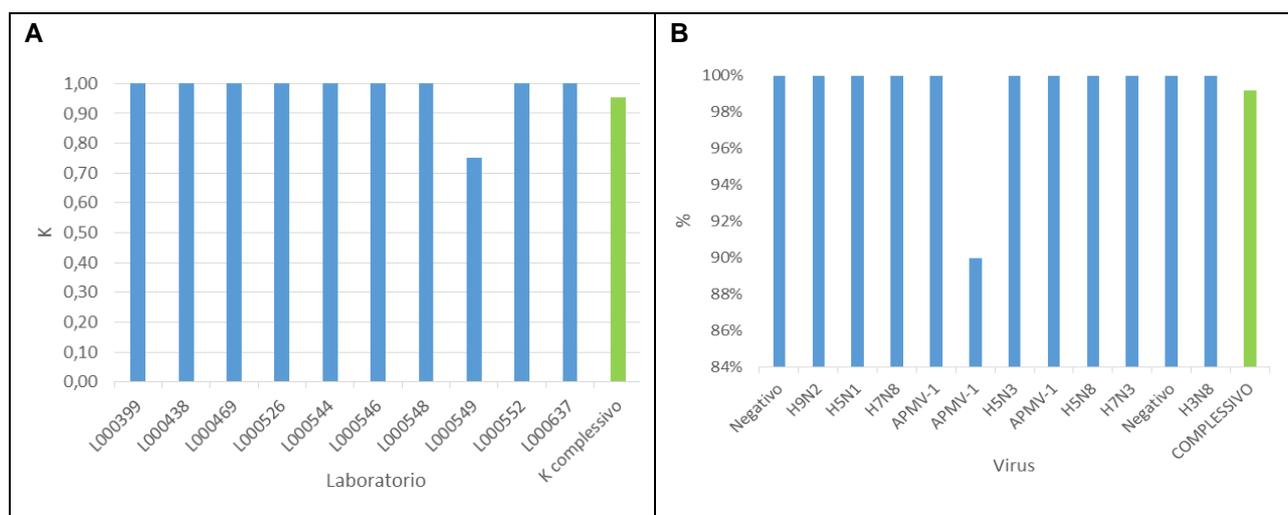
■ Risultato errato.

* Valore della moda dei titoli HA ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione di antigene che provoca la completa agglutinazione degli eritrociti.

Tabella 9. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando APMV-1 dello schema AQUA IN-V.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
99,17%	0,96	0,00

Figura 3. Analisi dei risultati per il misurando APMV-1 dello schema AQUA IN-V. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



Nove (9) dei dieci (10) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza di paramyxovirus aviari di tipo 1 nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). Il laboratorio L000549 ha riportato il campione V6 (APMV-1) come falso negativo ottenendo concordanza buona con il valore assegnato ($K=0,75$, $p=0,00$).

Valutati nel complesso, i risultati sono 99,17% accurati e la concordanza dei risultati dei partecipanti è ottima ($K=0,96$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Tabella 10. Riepilogo dei risultati ottenuti da ciascun laboratorio partecipante allo schema AQUA IN-V.

	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544	L000546	L000548
Risultati trasmessi (No.)	36	36	36	36	36	36	36
Risposte corrette (No.)	36	36	36	36	36	36	36
Risposte corrette (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

	L000549	L000552	L000637
Risultati trasmessi (No.)	36	36	36
Risposte corrette (No.)	35	36	36
Risposte corrette (%)	97,22	100,00	100,00
Kappa	0,92	1,00	1,00
p-value	0,00	0,00	0,00

Tutti i laboratori che hanno partecipato allo schema hanno trasmesso risultati 100% in accordo con gli assegnati ad eccezione del laboratorio L000549 che ha mancato l'identificazione del campione V6 (APMV-1). Nonostante ciò, la concordanza con il valore assegnato per lo schema AQUA IN-IV, valutata con la statistica K, è risultata essere ottima 9, e statisticamente significativa per tutti i laboratori.

6.2 Schema AQUA IN-S

Tabella 11. Risultati dell'identificazione di anticorpi specifici contro l'influenza A virus mediante test ELISA (AQUA IN-S).

ID Campione	Sottotipo	Nome del ceppo virale (antigene immunizzante) con cui è stato prodotto il siero	Titolo in HI***	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000546	L000548
S1	H9N2	A/poultry/Niger/ET1_21VIR2131-45/2021	1:2048	SI						
S2	-	Negativo	-	NO						
S3	APMV-2	APMV2/chicken/Yucaipa/56	1:128	NO						
S4*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:128	SI						
S5	H5N6	A/mute swan/England/AVP-18-1986/17 (HPAI)	1:64	SI						
S6	APMV-1	NDV vaccine B1	1:256	NO						
S7*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:256	SI						
S8**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:64	SI						
S9**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:128	SI						
S10	-	Negativo	-	NO						
S11	APMV-1	APMV-1/bassette chicken/Belgium/4096/2018	1:128	NO						
S12	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:512	SI						
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV:** Paramyxovirus aviare; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

* I campioni S4 e S7 e ** i campioni S8 e S9 sono costituiti da differenti diluizioni dello stesso siero.

*** Valore della moda dei titoli anticorpali ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione del siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo.

Tabella 11 (continuazione). Risultati dell'identificazione di anticorpi specifici contro l'influenza A virus mediante test ELISA (AQUA IN-S).

ID Campione	Sottotipo	Nome del ceppo virale (antigene immunizzante) con cui è stato prodotto il siero	Titolo in HI***	L000549	L000550	L000551	L000552	L000637	L000685
S1	H9N2	A/poultry/Niger/ET1_21VIR2131-45/2021	1:2048	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S2	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S3	APMV-2	APMV2/chicken/Yucaipa/56	1:128	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S4*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S5	H5N6	A/mute swan/England/AVP-18-1986/17 (HPAI)	1:64	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S6	APMV-1	NDV vaccine B1	1:256	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S7*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:256	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S8**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:64	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S9**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S10	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S11	APMV-1	APMV-1/bassette chicken/Belgium/4096/2018	1:128	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S12	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:512	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV:** Paramyxovirus aviare; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

■ Risultato errato.

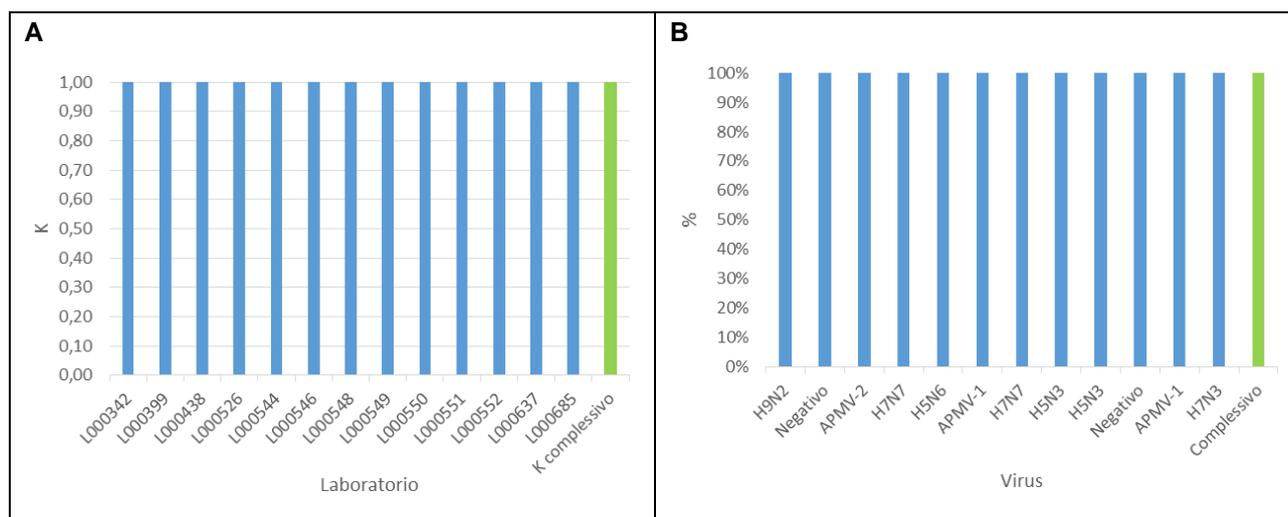
* I campioni S4 e S7 e ** i campioni S8 e S9 sono costituiti da differenti diluizioni dello stesso siero.

*** Valore della moda dei titoli anticorpali ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione del siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo.

Tabella 12. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando AIV dello schema AQUA IN-S.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
100,00%	1,00	0,00

Figura 4. Analisi dei risultati per il misurando AIV dello schema AQUA IN-S. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



I tredici (13) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza di anticorpi contro virus influenzali di tipo A nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$).

Nel complesso, i risultati dei partecipanti rispetto all'identificazione dello specifico misurando sono 100% accurati e la concordanza dei risultati è ottima ($K=1$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Tabella 13. Risultati dell'identificazione di anticorpi specifici per il sottotipo H5 del virus dell'influenza aviaria mediante test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI) (AQUA IN-S).

ID Campione	Sottotipo	Nome del ceppo virale (antigene immunizzante) con cui è stato prodotto il siero	Titolo in HI***	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000546	L000548
S1	H9N2	A/poultry/Niger/ET1_21VIR2131-45/2021	1:2048	NO						
S2	-	Negativo	-	NO						
S3	APMV-2	APMV2/chicken/Yucaipa/56	1:128	NO						
S4*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:128	NO						
S5	H5N6	A/mute swan/England/AVP-18-1986/17 (HPAI)	1:64	NO	SI	NO	SI	NO	SI	SI
S6	APMV-1	NDV vaccine B1	1:256	NO						
S7*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:256	NO						
S8**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:64	SI						
S9**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:128	SI						
S10	-	Negativo	-	NO						
S11	APMV-1	APMV-1/bassette chicken/Belgium/4096/2018	1:128	NO						
S12	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:512	NO						
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				11	12	11	12	11	12	12
Risposte corrette (%)				91,67	100,00	91,67	100,00	91,67	100,00	100,00
Kappa				0,75	1,00	0,75	1,00	0,75	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV:** Paramyxovirus aviare; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

■ Risultato errato.

* I campioni S4 e S7 e ** i campioni S8 e S9 sono costituiti da differenti diluizioni dello stesso siero.

*** Valore della moda dei titoli anticorpali ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione del siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo.

Tabella 13 (continuazione). Risultati dell'identificazione di anticorpi specifici per il sottotipo H5 del virus dell'influenza aviaria mediante test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI) (AQUA IN-S).

ID Campione	Sottotipo	Nome del ceppo virale (antigene immunizzante) con cui è stato prodotto il siero	Titolo in HI***	L000549	L000550	L000551	L000552	L000637	L000685
S1	H9N2	A/poultry/Niger/ET1_21VIR2131-45/2021	1:2048	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S2	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S3	APMV-2	APMV2/chicken/Yucaipa/56	1:128	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S4*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S5	H5N6	A/mute swan/England/AVP-18-1986/17 (HPAI)	1:64	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S6	APMV-1	NDV vaccine B1	1:256	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S7*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:256	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S8**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:64	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S9**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S10	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S11	APMV-1	APMV-1/bassette chicken/Belgium/4096/2018	1:128	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S12	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:512	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV:** Paramyxovirus aviare; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

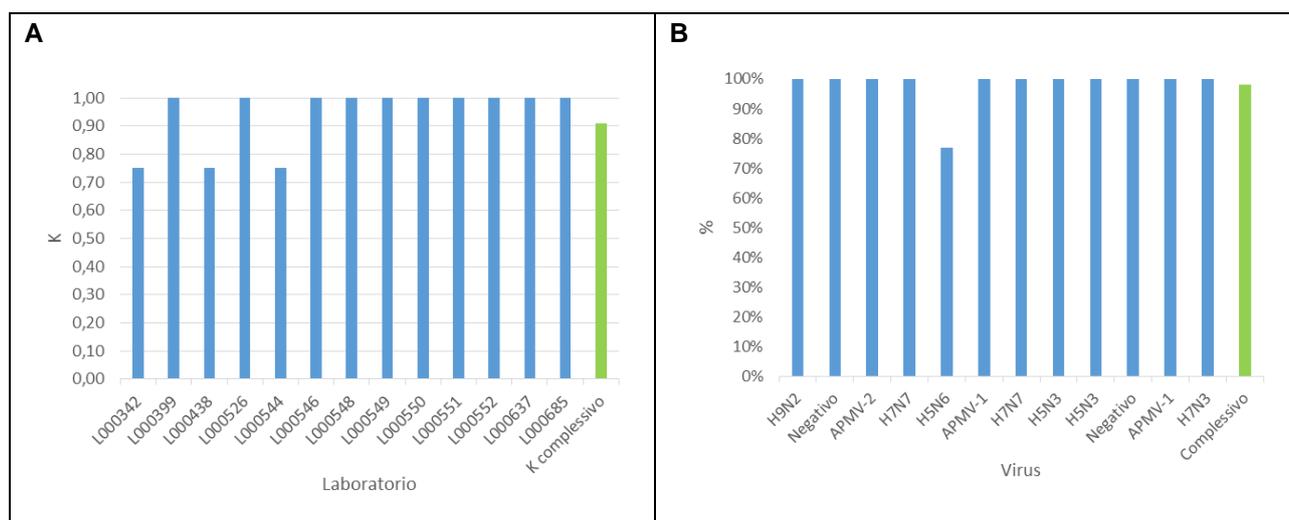
* I campioni S4 e S7 e ** i campioni S8 e S9 sono costituiti da differenti diluizioni dello stesso siero.

*** Valore della moda dei titoli anticorpali ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione del siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo.

Tabella 14. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando AIV-H5 dello schema AQUA IN-S.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
98,08%	0,91	0,00

Figura 5. Analisi dei risultati per il misurando AIV-H5 dello schema AQUA IN-S. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



Dieci (10) dei tredici (13) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza di anticorpi specifici per i virus influenzali aviari di sottotipo H5 nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). I laboratori L000342, L000438, L000544 hanno riportato il campione S5 (H5N6) come falso negativo ottenendo concordanza buona con il valore assegnato ($K=0,75$, $p=0,00$).

Valutata nel complesso, l'accuratezza e la concordanza dei risultati rispetto all'identificazione dello specifico misurando è ottima (98,08%, $K=0,91$). Il valore di K è risultato essere statisticamente significativo ($p<0,05$).

Tabella 15. Risultati dell'identificazione di anticorpi specifici per il sottotipo H7 del virus dell'influenza aviaria mediante test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI) (AQUA IN-S).

ID Campione	Sottotipo	Nome del ceppo virale (antigene immunizzante) con cui è stato prodotto il siero	Titolo in HI***	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000546	L000548
S1	H9N2	A/poultry/Niger/ET1_21VIR2131-45/2021	1:2048	NO						
S2	-	Negativo	-	NO						
S3	APMV-2	APMV2/chicken/Yucaipa/56	1:128	NO						
S4*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:128	SI						
S5	H5N6	A/mute swan/England/AVP-18-1986/17 (HPAI)	1:64	NO						
S6	APMV-1	NDV vaccine B1	1:256	NO						
S7*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:256	SI						
S8**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:64	NO						
S9**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:128	NO						
S10	-	Negativo	-	NO						
S11	APMV-1	APMV-1/bassette chicken/Belgium/4096/2018	1:128	NO						
S12	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:512	SI						
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV:** Paramyxovirus aviare; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

* I campioni S4 e S7 e ** i campioni S8 e S9 sono costituiti da differenti diluizioni dello stesso siero.

*** Valore della moda dei titoli anticorpali ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione del siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo.

Tabella 15 (continuazione). Risultati dell'identificazione di anticorpi specifici per il sottotipo H7 del virus dell'influenza aviaria mediante test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI) (AQUA IN-S).

ID Campione	Sottotipo	Nome del ceppo virale (antigene immunizzante) con cui è stato prodotto il siero	Titolo in HI***	L000549	L000550	L000551	L000552	L000637	L000685
S1	H9N2	A/poultry/Niger/ET1_21VIR2131-45/2021	1:2048	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S2	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S3	APMV-2	APMV2/chicken/Yucaipa/56	1:128	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S4*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:128	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S5	H5N6	A/mute swan/England/AVP-18-1986/17 (HPAI)	1:64	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S6	APMV-1	NDV vaccine B1	1:256	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S7*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:256	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S8**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:64	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S9**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:128	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S10	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S11	APMV-1	APMV-1/bassette chicken/Belgium/4096/2018	1:128	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S12	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:512	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV:** Paramyxovirus aviare; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

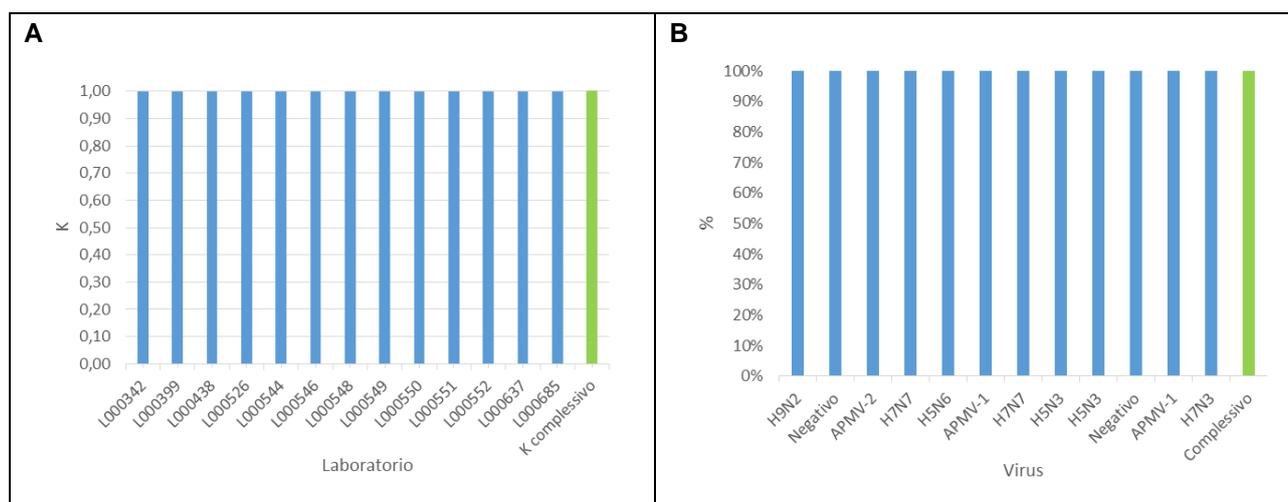
* I campioni S4 e S7 e ** i campioni S8 e S9 sono costituiti da differenti diluizioni dello stesso siero.

*** Valore della moda dei titoli anticorpali ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione del siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo.

Tabella 16. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando AIV-H7 dello schema AQUA IN-S.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
100,00%	1,00	0,00

Figura 6. Analisi dei risultati per il misurando AIV-H7 dello schema AQUA IN-S. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



I tredici (13) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza di anticorpi diretti contro virus influenzali di sottotipo H7 nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). Pertanto, i risultati complessivi sono 100% accurati e la concordanza ottima ($K=1$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Tabella 17. Risultati dell'identificazione di anticorpi specifici per il paramyxovirus aviare di tipo 1 (APMV-1) mediante test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI) (AQUA IN-S).

ID Campione	Sottotipo	Nome del ceppo virale (antigene immunizzante) con cui è stato prodotto il siero	Titolo in HI***	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000546	L000548
S1	H9N2	A/poultry/Niger/ET1_21VIR2131-45/2021	1:2048	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S2	-	Negativo	-	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S3	APMV-2	APMV2/chicken/Yucaipa/56	1:128	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S4*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:128	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S5	H5N6	A/mute swan/England/AVP-18-1986/17 (HPAI)	1:64	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S6	APMV-1	NDV vaccine B1	1:256	NE	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S7*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:256	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S8**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:64	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S9**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:128	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S10	-	Negativo	-	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S11	APMV-1	APMV-1/bassette chicken/Belgium/4096/2018	1:128	NE	SI	SI	SI	SI	SI	SI
S12	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:512	NE	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				0	12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (No.)				n.a.	12	12	12	12	12	12
Risposte corrette (%)				n.a.	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				n.a.	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				n.a.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **NE:** Non eseguito; **n.a.:** Non applicabile; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV:** Paramyxovirus aviare; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

* I campioni S4 e S7 e ** i campioni S8 e S9 sono costituiti da differenti diluizioni dello stesso siero.

*** Valore della moda dei titoli anticorpali ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione del siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo.

IZSVe – Centro di Referenza Nazionale per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle
Report definitivo emesso il 01/09/2023

Tabella 17 (continuazione). Risultati dell'identificazione di anticorpi specifici per il paramyxovirus aviare di tipo 1 (APMV-1) mediante test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI) (AQUA IN-S).

ID Campione	Sottotipo	Nome del ceppo virale (antigene immunizzante) con cui è stato prodotto il siero	Titolo in HI***	L000549	L000550	L000551	L000552	L000637	L000685
S1	H9N2	A/poultry/Niger/ET1_21VIR2131-45/2021	1:2048	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S2	-	Negativo	-	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S3	APMV-2	APMV2/chicken/Yucaipa/56	1:128	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S4*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:128	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S5	H5N6	A/mute swan/England/AVP-18-1986/17 (HPAI)	1:64	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S6	APMV-1	NDV vaccine B1	1:256	SI	SI	NE	SI	SI	SI
S7*	H7N7	A/teal/Italy/16VIR345/2016 (LPAI)	1:256	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S8**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:64	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S9**	H5N3	A/duck/Italy/21VIR8024-20/2021 (LPAI)	1:128	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S10	-	Negativo	-	NO	NO	NE	NO	NO	NO
S11	APMV-1	APMV-1/bassette chicken/Belgium/4096/2018	1:128	SI	SI	NE	SI	SI	SI
S12	H7N3	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021 (LPAI)	1:512	NO	NO	NE	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				12	12	12	12	12	12
Campioni analizzati (No.)				12	12	0	12	12	12
Risposte corrette (No.)				12	12	n.a.	12	12	12
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	n.a.	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	n.a.	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	n.a.	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **NE:** Non eseguito; **n.a.:** Non applicabile; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV:** Paramyxovirus aviare; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

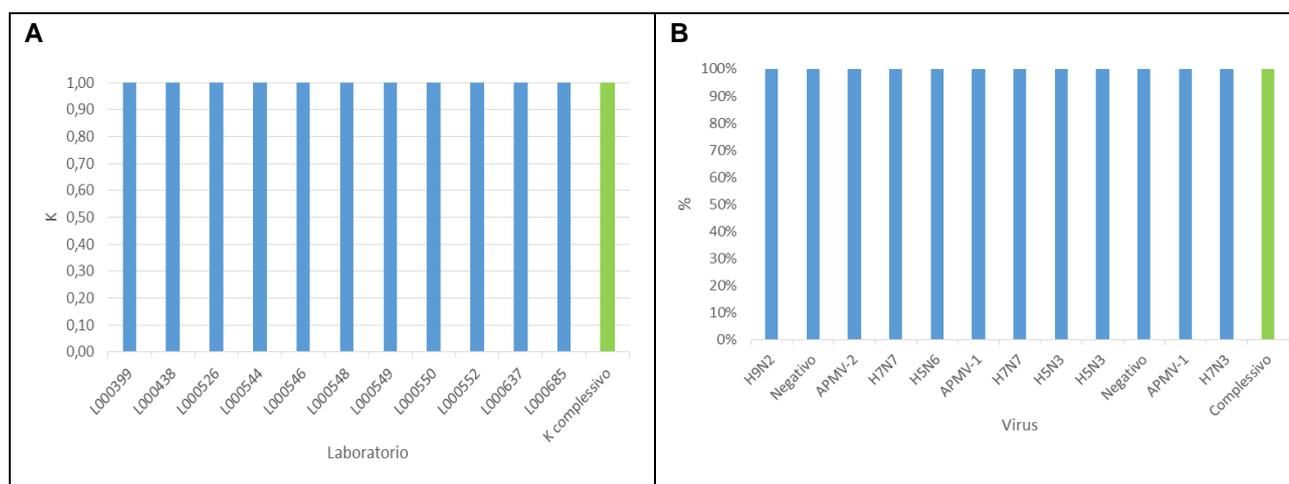
* I campioni S4 e S7 e ** i campioni S8 e S9 sono costituiti da differenti diluizioni dello stesso siero.

*** Valore della moda dei titoli anticorpali ottenuti durante i test di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione del siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo.

Tabella 18. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando APMV-1 dello schema AQUA IN-S.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
100,00%	1,00	0,00

Figura 7. Analisi dei risultati per il misurando APMV-1 dello schema AQUA IN-S. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



Gli undici (11) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza di anticorpi diretti contro il virus della malattia di Newcastle (APMV-1) nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). Pertanto, i risultati complessivi sono 100% accurati e la concordanza ottima ($K=1$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

I laboratori L000342 e L000551 non hanno effettuato analisi per il riconoscimento di questo misurando, per cui nessuna statistica è stata applicata.

Tabella 19. Riepilogo dei risultati ottenuti da ciascun laboratorio partecipante allo schema AQUA IN-S.

	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000546	L000548
Risultati trasmessi (No.)	36	48	48	48	48	48	48
Risposte corrette (No.)	35	48	47	48	47	48	48
Risposte corrette (%)	97,22	100,00	97,92	100,00	97,92	100,00	100,00
Kappa	0,94	1,00	0,95	1,00	0,95	1,00	1,00
p-value	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

	L000549	L000550	L000551	L000552	L000637	L000685
Risultati trasmessi (No.)	48	48	36	48	48	48
Risposte corrette (No.)	48	48	36	48	48	48
Risposte corrette (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Dieci (10) dei tredici (13) laboratori che hanno partecipato allo schema hanno trasmesso risultati 100% in accordo con gli assegnati. I laboratori L000342, L000438, L000544 hanno mancato l'identificazione del campione S5 (H5N6). Nonostante ciò, la concordanza con il valore assegnato, valutata con la statistica kappa, è risultata essere ottima per tutti i laboratori

In tutti i casi, i valori del coefficiente kappa sono risultati statisticamente significativi, quindi l'accordo osservato non era dovuto al caso ($p < 0,05$).

6.3 Schema AQUA IN-M

Tabella 20. Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000342	L000356	L000390	L000399	L000438	L000452
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NO	NO	NO	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NO	NO	NO	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NO	NO	NO	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M12	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M15	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	15	15	15	15	15
Risposte corrette (No.)				15	15	15	15	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 20 (continuazione). Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NO	NO	NO	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NO	NO	NO	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NO	NO	NO	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M12	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
M15	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	15	15	15	15	15
Risposte corrette (No.)				15	15	15	15	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 20 (continuazione). Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000548	L000549	L000586	L000637	L000685
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NO	NO	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NO	NO	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NO	NO	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M12	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	SI	SI	SI	SI	SI
M15	-	Negativo	-	NO	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	15	15	15	15
Risposte corrette (No.)				15	15	15	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

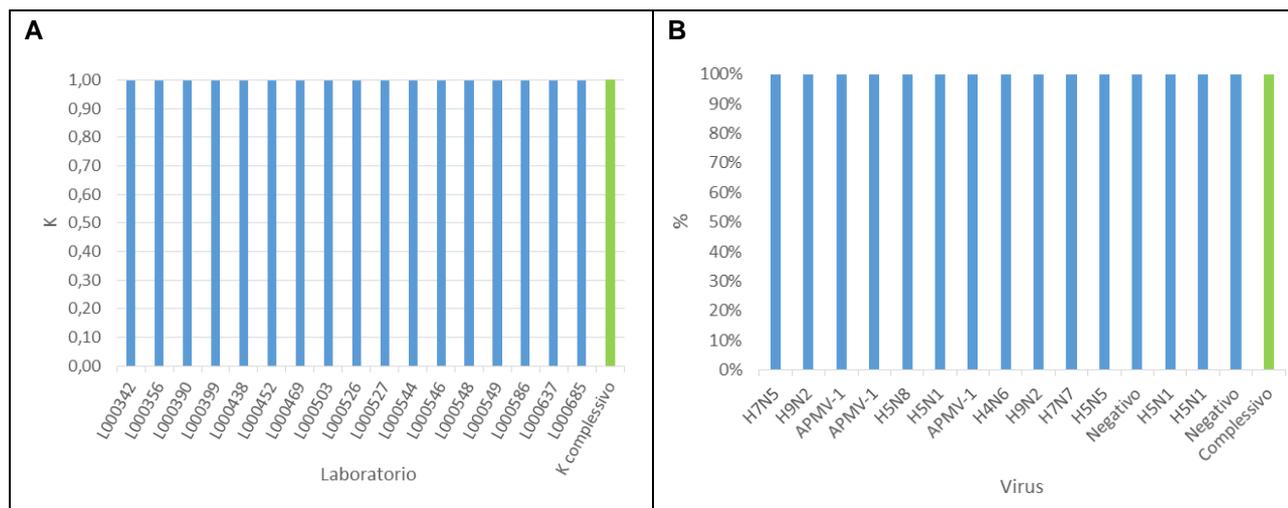
SI: Positivo; **NO:** Negativo; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 21. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando AIV dello schema AQUA IN-M.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
100,00%	1,00	0,00

Figura 8. Analisi dei risultati per il misurando AIV dello schema AQUA IN-M. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



I diciassette (17) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza del genoma di virus influenzali aviari nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). Pertanto, i risultati complessivi sono 100% accurati e la concordanza ottima ($K=1$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Tabella 22. Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) sottotipo H5 (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000342	L000356	L000390	L000399	L000438	L000452
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	SI	NE	NE	SI	SI	SI
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	SI	NE	NE	SI	SI	SI
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	SI	NE	NE	SI	SI	SI
M12	-	Negativo	-	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	SI	NE	NE	SI	SI	SI
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	SI	NE	NE	SI	SI	SI
M15	-	Negativo	-	NO	NE	NE	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	0	0	15	15	15
Risposte corrette (No.)				15	n.a.	n.a.	15	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	n.a.	n.a.	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	n.a.	n.a.	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	n.a.	n.a.	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **NE:** Non eseguito; **n.a.:** Non applicabile; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 22 (continuazione). Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) sottotipo H5 (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M12	-	Negativo	-	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M15	-	Negativo	-	NO	NE	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	0	15	15	15	15
Risposte corrette (No.)				15	n.a.	15	15	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	n.a.	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa				1,00	n.a.	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	n.a.	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **NE:** Non eseguito; **n.a.:** Non applicabile; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 22 (continuazione). Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) sottotipo H5 (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000548	L000549	L000586	L000637	L000685
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NO	NE	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NO	NE	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	SI	SI	NE	SI	SI
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	SI	SI	NE	SI	SI
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NO	NE	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	SI	SI	NE	SI	SI
M12	-	Negativo	-	NO	NO	NE	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	SI	SI	NE	SI	SI
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	SI	SI	NE	SI	SI
M15	-	Negativo	-	NO	NO	NE	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	15	0	15	15
Risposte corrette (No.)				15	15	n.a.	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	n.a.	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	n.a.	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	n.a.	0,00	0,00

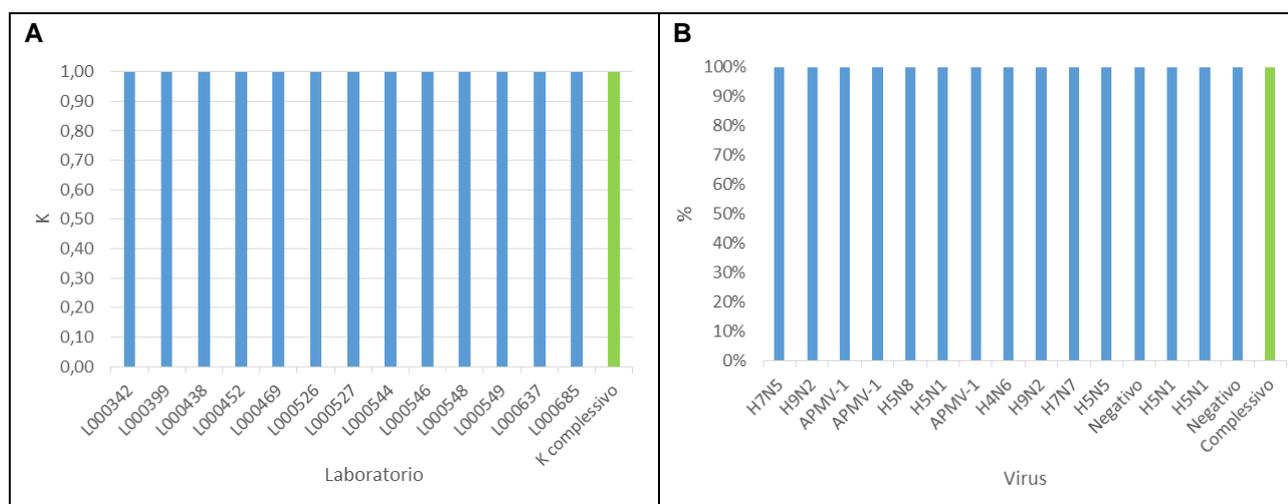
SI: Positivo; **NO:** Negativo; **NE:** Non eseguito; **n.a.:** Non applicabile; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 23. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando AIV-H5 dello schema AQUA IN-M.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
100,00%	1,00	0,00

Figura 9. Analisi dei risultati per il misurando AIV-H5 dello schema AQUA IN-M. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



I tredici (13) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza del genoma di virus influenzali aviari di sottotipo H5 nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). Pertanto, i risultati complessivi sono 100% accurati e la concordanza ottima ($K=1$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Nessuna statistica è stata applicata per i laboratori L000356, L000390, L000503, L000586, in quanto non hanno testato i campioni per lo specifico misurando.

Tabella 24. Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) sottotipo H7 (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000342	L000356	L000390	L000399	L000438	L000452
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	SI	NE	NE	SI	SI	SI
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	NO	NE	NE	SI	SI	SI
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M12	-	Negativo	-	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	NO	NE	NE	NO	NO	NO
M15	-	Negativo	-	NO	NE	NE	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	0	0	15	15	15
Risposte corrette (No.)				15	n.a.	n.a.	15	15	15
Risposte corrette (%)				93,33	n.a.	n.a.	100,00	100,00	100,00
Kappa				0,63	n.a.	n.a.	1,00	1,00	1,00
p-value				0,00	n.a.	n.a.	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; NO: Negativo; NE: Non eseguito; n.a.: Non applicabile; AIV: Virus dell'influenza aviaria; APMV-1: Paramyxovirus aviare di tipo 1; PPMV-1: Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; HPAI: Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; LPAI: Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

■ Risultato errato.

Tabella 24 (continuazione). Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) sottotipo H7 (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	SI	NE	SI	SI	NO	SI
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M12	-	Negativo	-	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M15	-	Negativo	-	NO	NE	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	0	15	15	15	15
Risposte corrette (No.)				15	n.a.	15	15	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	n.a.	100,00	100,00	93,33	100,00
Kappa				1,00	n.a.	1,00	1,00	0,63	1,00
p-value				0,00	n.a.	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; NO: Negativo; NE: Non eseguito; n.a.: Non applicabile; AIV: Virus dell'influenza aviaria; APMV-1: Paramyxovirus aviare di tipo 1; PPMV-1: Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; HPAI: Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; LPAI: Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

■ Risultato errato.

Tabella 24 (continuazione). Risultati dell'identificazione del genoma del virus dell'influenza aviaria (AIV) sottotipo H7 (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000548	L000549	L000586	L000637	L000685
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	SI	SI	NE	SI	SI
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NO	NO	NE	NO	NO
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NO	NO	NE	NO	NO
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NO	NO	NE	NO	NO
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	SI	SI	NE	SI	SI
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M12	-	Negativo	-	NO	NO	NE	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M15	-	Negativo	-	NO	NO	NE	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	15	0	15	15
Risposte corrette (No.)				15	15	n.a.	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	n.a.	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	n.a.	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	n.a.	0,00	0,00

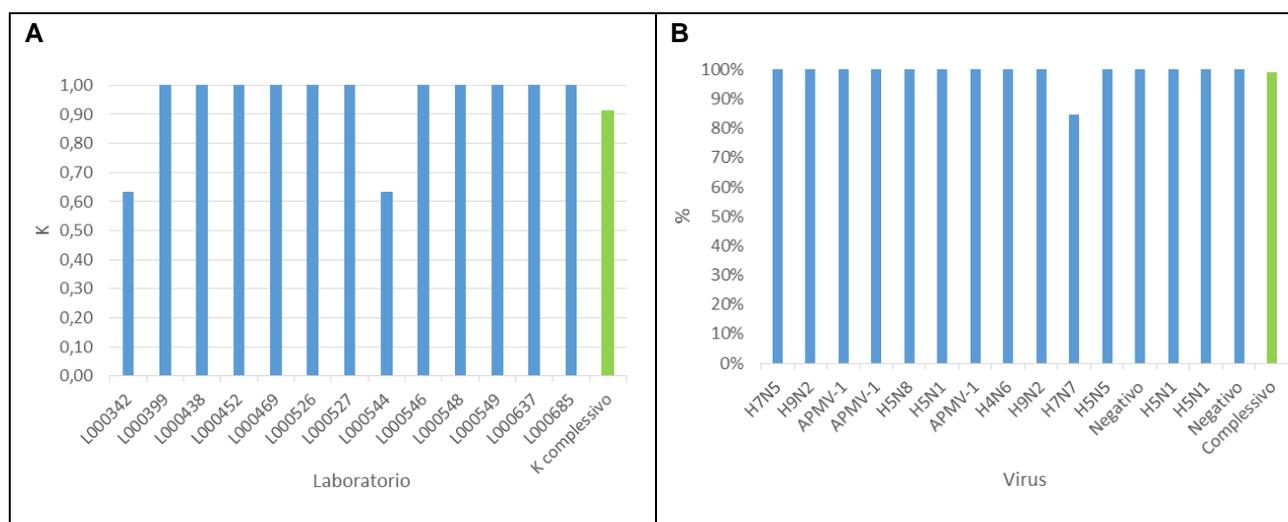
SI: Positivo; **NO:** Negativo; **NE:** Non eseguito; **n.a.:** Non applicabile; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 25. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando AIV-H7 dello schema AQUA IN-M.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
98,97%	0,91	0,00

Figura 10. Analisi dei risultati per il misurando AIV-H7 dello schema AQUA IN-M. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



Undici (11) dei tredici (13) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza del genoma di virus influenzali aviari di sottotipo H7 nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). I laboratori L000342 e L000544 hanno riportato il campione M10 (H7N7) come falso negativo ottenendo concordanza buona con il valore assegnato ($K=0,63$, $p=0,00$).

Nel complesso, i risultati sono 98,97% accurati e la concordanza ottima ($K=0,91$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Nessuna statistica è stata applicata per i laboratori L000356, L000390, L000503, L000586, in quanto non hanno testato i campioni per lo specifico misurando.

Tabella 26. Risultati dell'identificazione del genoma del paramyxovirus aviare di tipo 1 (APMV-1) (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000342	L000356	L000390	L000399	L000438	L000452
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	NE	NE	NE	SI	SI	SI
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	NE	NE	NE	SI	SI	SI
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	NE	NE	NE	SI	SI	SI
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M12	-	Negativo	-	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	NE	NE	NE	NO	NO	NO
M15	-	Negativo	-	NE	NE	NE	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				0	0	0	15	15	15
Risposte corrette (No.)				n.a.	n.a.	n.a.	15	15	15
Risposte corrette (%)				n.a.	n.a.	n.a.	100,00	100,00	100,00
Kappa				n.a.	n.a.	n.a.	1,00	1,00	1,00
p-value				n.a.	n.a.	n.a.	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; **NO:** Negativo; **NE:** Non eseguito; **n.a.:** Non applicabile; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 26 (continuazione). Risultati dell'identificazione del genoma del paramyxovirus aviare di tipo 1 (APMV-1) (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	SI	NE	SI	SI	SI	SI
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M12	-	Negativo	-	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	NO	NE	NO	NO	NO	NO
M15	-	Negativo	-	NO	NE	NO	NO	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	0	15	15	15	15
Risposte corrette (No.)				15	n.a.	15	15	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	n.a.	100,00	100,00	93,33	100,00
Kappa				1,00	n.a.	1,00	1,00	0,63	1,00
p-value				0,00	n.a.	0,00	0,00	0,00	0,00

SI: Positivo; NO: Negativo; NE: Non eseguito; n.a.: Non applicabile; AIV: Virus dell'influenza aviaria; APMV-1: Paramyxovirus aviare di tipo 1; PPMV-1: Paramyxovirus aviare di tipo 1, variante "piccione"; HPAI: Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; LPAI: Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 26 (continuazione). Risultati dell'identificazione del genoma del paramyxovirus aviare di tipo 1 (APMV-1) (AQUA IN-M).

ID Campione	Sottotipo	Ceppo virale	Patotipo	L000548	L000549	L000586	L000637	L000685
M1	H7N5	A/Anas platyrhynchos/Belgium/467_H191864_19VIR8799-66/2017	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M2	H9N2	A/turkey/Italy/16VIR8643-60/2016	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M3	APMV-1	PPMV1/collared dove/Cyprus/20VIR3543-13/2020	Mesogeno	SI	SI	NE	SI	SI
M4	APMV-1	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	Velogeno	SI	SI	NE	SI	SI
M5	H5N8	A/goose/Italy/20VIR7660-8/2020	HPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M6	H5N1	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M7	APMV-1	NDV vaccine V4-Like	Lentogeno	SI	SI	NE	SI	SI
M8	H4N6	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M9	H9N2	A/pheasant/Italy/21VIR2284-22/2021	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M10	H7N7	A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M11	H5N5	A/mute swan/Romania/11981-1_21VIR3163-5/2021	HPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M12	-	Negativo	-	NO	NO	NE	NO	NO
M13	H5N1	A/avian/Italy/22VIR8877-44/2022	HPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M14	H5N1	A/duck/Italy/22VIR8870-11/2022	LPAI	NO	NO	NE	NO	NO
M15	-	Negativo	-	NO	NO	NE	NO	NO
Campioni inviati (No.)				15	15	15	15	15
Campioni analizzati (No.)				15	15	0	15	15
Risposte corrette (No.)				15	15	n.a.	15	15
Risposte corrette (%)				100,00	100,00	n.a.	100,00	100,00
Kappa				1,00	1,00	n.a.	1,00	1,00
p-value				0,00	0,00	n.a.	0,00	0,00

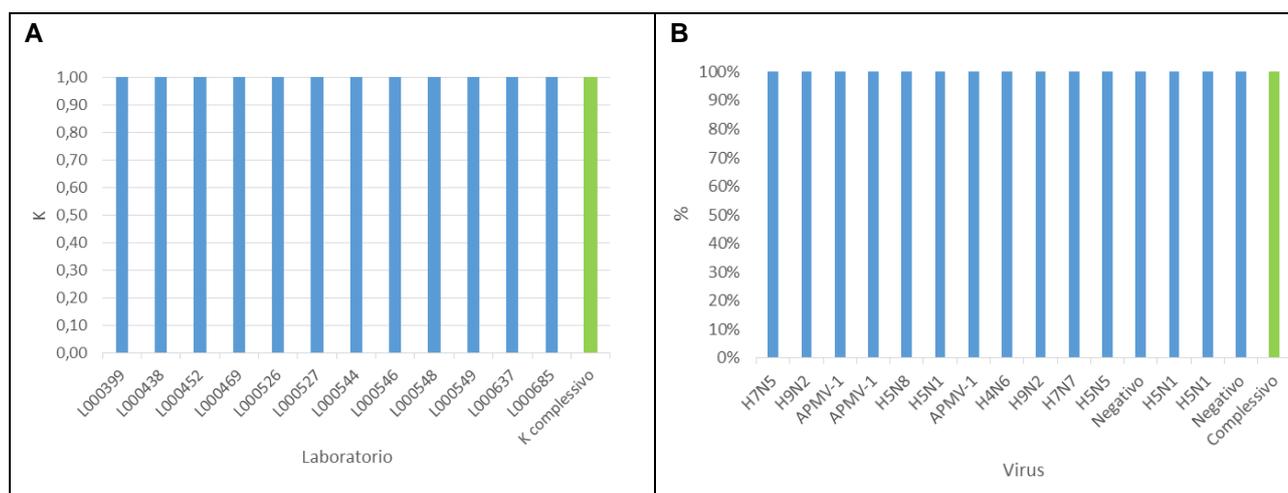
SI: Positivo; **NO:** Negativo; **NE:** Non eseguito; **n.a.:** Non applicabile; **AIV:** Virus dell'influenza aviaria; **APMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1; **PPMV-1:** Paramyxovirus aviare di tipo 1, variante "piccione"; **HPAI:** Virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità; **LPAI:** Virus dell'influenza aviaria a bassa patogenicità.

 Risultato errato.

Tabella 27. Analisi degli esiti complessivi trasmessi per il misurando APMV-1 dello schema AQUA IN-M.

Accuratezza totale	Kappa complessivo	p-value
100,00%	1,00	0,00

Figura 11. Analisi dei risultati per il misurando APMV-1 dello schema AQUA IN-M. A) Valore di K calcolato per ciascun laboratorio e tra tutti i partecipanti; B) accuratezza per ciascun campione e complessiva.



I dodici (12) laboratori che hanno eseguito test per determinare la presenza di pamamyxovirus aviari di tipo 1 (APMV-1) nei campioni prova hanno trasmesso risultati in accordo con il valore assegnato, identificando correttamente tutti i campioni del pannello ($K=1$, $p=0,00$). Pertanto, i risultati complessivi sono 100% accurati e la concordanza ottima ($K=1$) e statisticamente significativa ($p<0,05$).

Nessuna statistica è stata applicata per i laboratori L000342, L000356, L000390, L000503, L000586 in quanto non hanno testato i campioni per lo specifico misurando.

Tabella 28. Riepilogo dei risultati ottenuti da ciascun laboratorio partecipante allo schema AQUA IN-M.

	L000342	L000356	L000390	L000399	L000438	L000452
Risultati trasmessi (No.)	45	15	15	60	60	60
Risposte corrette (No.)	44	15	15	60	60	60
Risposte corrette (%)	97,78	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa	0,95	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546
Risultati trasmessi (No.)	60	15	60	60	60	60
Risposte corrette (No.)	60	15	60	60	59	60
Risposte corrette (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	98,33	100,00
Kappa	1,00	1,00	1,00	1,00	0,96	1,00
p-value	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

	L000548	L000549	L000586	L000637	L000685
Risultati trasmessi (No.)	60	60	15	60	60
Risposte corrette (No.)	60	60	15	60	60
Risposte corrette (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Kappa	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p-value	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Quindici (15) dei diciassette (17) laboratori che hanno partecipato allo schema hanno trasmesso risultati 100% in accordo con gli assegnati. I laboratori L000342 e L000544 hanno mancato l'identificazione del campione M10 (H7N7). Nonostante ciò, la concordanza con il valore assegnato, valutata con la statistica kappa, è risultata essere ottima per tutti i laboratori.

In tutti i casi, i valori del coefficiente kappa sono risultati statisticamente significativi, quindi l'accordo osservato non era dovuto al caso ($p < 0,05$).

7 Discussione dei risultati

7.1 Schema AQUA IN-V

I dieci (10) laboratori che hanno partecipato allo schema AQUA IN-V hanno dimostrato un eccellente livello di competenza nell'esecuzione dell'esercizio, raggiungendo una percentuale di successo del 99,72% (359 risultati corretti / 360 risultati presentati). Tutti i dodici campioni del pannello, con l'eccezione di V6 (APMV-1), sono stati correttamente categorizzati rispetto a tutti i misurandi valutabili.

Il laboratorio L000549 ha considerato negativo per APMV-1 il campione specificato, pertanto, per il determinato misurando, è stata ottenuta un'accuratezza del 99,17% con i valori assegnati (Tabella 9). La ragione di tale errore non è stata chiaramente identificata, ma in primo luogo si consiglia di ritestare il campione.

7.2 Schema AQUA IN-S

Complessivamente, tredici (13) laboratori hanno partecipato allo schema AQUA IN-S ottenendo un tasso di successo del 99,50% (597 risultati corretti / 600 risultati presentati). Il mancato raggiungimento di una perfetta corrispondenza con i valori assegnati è dipeso da tre risposte errate trasmesse dai laboratori L000342, L000438, L000544 per il campione S05 (HPAI H5N6), dato come falso negativo nonostante la presenza di anticorpi contro virus influenzali aviari di sottotipo H5. Pertanto, per il determinato misurando il grado di accuratezza complessivo degli esiti è stato pari a 98,08% (Tabella 14).

La mancata identificazione di questo campione potrebbe essere dovuta agli antigeni utilizzati nei test di inibizione dell'emoagglutinazione. In particolare, l'uso di antigeni emoagglutinanti H5 derivati da virus a bassa patogenicità o di H5 antigenicamente distanti dai virus H5 ad alta patogenicità attualmente circolanti potrebbe risultare in reazioni assenti o deboli. Per prevenire tali false interpretazioni, si raccomanda di includere quest'ultimi tra i reagenti in uso.

7.3 Schema AQUA IN-M

Complessivamente, diciassette (17) laboratori hanno partecipato allo schema AQUA IN-M, dimostrando un ottimo livello di competenza rispetto all'identificazione e la caratterizzazione di AIV e APMV-1 con saggi biomolecolari (Tabella 28). È stata infatti ottenuta una percentuale di successo pari al 99,76% (823 risultati corretti / 825 risultati presentati).

Quattordici dei quindici campioni (14/15) del pannello sono stati correttamente determinati per tutti i misurandi valutabili e due soli risultati falsi negativi sono stati riportati. Il campione M10 (H7N7) è stato infatti testato con un successo complessivo del 96,36% poiché categorizzato come H7-negativo da due laboratori, L000342 e L000544. Dunque, l'accuratezza degli esiti presentati per questo specifico misurando è stata pari a 98,97% (Tabella 25).

Si può ipotizzare che il mancato riconoscimento del campione M10 sia legato alle caratteristiche genetiche del ceppo LPAI A/mallard/Italy/22VIR4781-2/2022 in M10, che potrebbero aver compromesso le performance della real-time RT-PCR PDP VIR 144 utilizzata da L000342 e L000544, piuttosto che alla carica virale di RNA nel campione. Infatti, tra i due campioni H7 positivi del pannello, la concentrazione di RNA in M10, ottenuta utilizzando metodiche sperimentali, era superiore a quella presente in M1, rispettivamente $10^{5,60}$ e $10^{3,75}$ GC/ml, correttamente identificato da tutti i partecipanti. A tal proposito l'organizzazione desidera sottolineare che il campione specifico, durante i test di assicurazione qualità dei risultati, è sempre risultato negativo quando testato con la PDP VIR 144 rev. – 03, mentre un corretto riconoscimento è stato ottenuto applicando la metodica

RT-PCR convenzionale PDV VIR 126 rev. – 04. Si evidenzia inoltre che l'uso di un saggio real-time recentemente validato dal CRN, basato sul protocollo di Hassan *et al.*, 2022, ha confermato il dato osservato con il protocollo di tipo *end-point*.

In effetti, da un confronto *in silico* tra la sequenza nucleotidica del ceppo in M10 e gli oligo inclusi nella PDP VIR 144 è emersa la presenza di diversi mismatches nella regione di annealing del set di oligonucleotidi che potrebbero aver pregiudicato l'efficienza del metodo in termini di inclusività.

Alla luce di queste considerazioni, i due falsi negativi risultano essere abbastanza comprensibili e in linea con le aspettative. Da notare che il laboratorio L000544 ha testato il campione M10 anche con un differente metodo (Monne *et al.*, 2008), fornendo l'esito corretto e dimostrando quindi la capacità di diagnosticare l'infezione da virus dell'influenza aviaria del sottotipo H7. Tale dato non è mostrato nel presente report poiché trasmesso come nota, quindi non valutabile al fine della determinazione delle performance nell'ambito del programma AQUA IN.

Ancora una volta, ove è possibile si raccomanda di implementare l'algoritmo diagnostico in uso per l'identificazione dei ceppi H5 e H7 notificabili applicando in parallelo più di un metodo (in particolare real-time RT-PCR unitamente a RT-PCR classica) al fine di evidenziare i limiti in termini di inclusività di metodi precedentemente validati.

8 Conclusioni

Il Circuito Interlaboratorio AQUA IN organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle nell'edizione del 2023 ha visto la partecipazione di venti (20) laboratori nazionali (Tabella 3). Nel complesso, i risultati dell'esercizio confermano un elevato livello di competenza dei laboratori per l'identificazione e la caratterizzazione di AIV e APMV-1 mediante tecniche molecolari, virologiche e sierologiche.

In caso di insuccesso, il laboratorio è invitato a non sottovalutare l'importanza di una o più identificazioni errate e a non trascurare le ragioni che hanno portato a conclusioni incongruenti.

A tal riguardo, l'organizzatore si rende disponibile ad offrire un servizio di follow-up ai partecipanti che ne facessero richiesta allo scopo di individuare la causa di eventuali errori, mettere in atto le necessarie misure correttive e garantire adeguato supporto per lo sviluppo e/o l'implementazione di nuovi test diagnostici presso i propri laboratori.

9 Informativa sulla privacy

Ai sensi degli artt. 13 e 14 Reg UE 2016/679 si rende la presente informativa privacy.

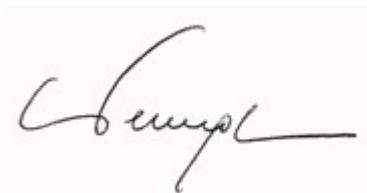
Titolare del trattamento: ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE VENEZIE (in sigla IZSVE), con sede legale in 35020 LEGNARO (PD), Viale dell'Università 10, C.F. e P.IVA 00206200289, in persona del Direttore generale e legale rappresentante pro tempore tel 0498084242, e-mail dirgen@izsvenezie.it. In particolare, i dati verranno trattati dal personale delle strutture complesse che erogano il circuito AQUA. Responsabile della protezione dei dati dell'IZSVE ai sensi dell'art. 37 GDPR (RPD/DPO), contattabile all'indirizzo e-mail dpo@izsvenezie.it.

Tipologia di dati e fonti: dati comuni, anagrafici e identificativi. Provengono tutti dall'Interessato. Finalità e modalità: i dati saranno trattati per l'adempimento di obblighi legali connessi all'iscrizione / adesione al circuito Aqua; il trattamento avverrà in modo sia manuale/cartaceo, che elettronico. Base giuridica: il trattamento si fonda, oltre che sul consenso manifestato tramite conferimento volontario dei dati, sull'adempimento di un obbligo contrattuale nonché sul legittimo interesse del Titolare. Obbligatorietà: il conferimento dei dati è obbligatorio e la sua mancanza comporta

IZSve – Centro di Referenza Nazionale per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle
Report definitivo emesso il 01/09/2023

l'impossibilità per il Titolare di eseguire la prestazione richiesta e di evadere la richiesta di iscrizione al circuito Aqua. Destinatari: i dati potranno essere comunicati a soggetti all'uopo Incaricati dal Titolare, a Responsabili del trattamento e consulenti del Titolare. Conservazione: i dati saranno conservati fino a revoca del consenso. Diritti: l'Interessato può esercitare i suoi diritti di accesso, rettifica, cancellazione, limitazione, portabilità, opposizione via email ai dati del Titolare di cui sopra. Reclamo: l'Interessato può proporre reclamo al Garante per la protezione dei dati personali. Revoca: il consenso può essere revocato, ma ciò potrebbe comportare l'impossibilità di evadere la richiesta di iscrizione al circuito Aqua o la cancellazione dell'iscrizione al circuito medesimo.

Data report definitivo 01/09/2023



Responsabile circuito interlaboratorio AQUA IN
Dr. Calogero Terregino

----- Fine report -----