

PROFICIENCY TESTING AQUA PM-I

Parassitologico Molluschi Istologico

Report	Finale
Schema	AQUA PM-I 1-26
Anno di erogazione	2026
Periodo di esecuzione	09/03/2026 – 05/06/2026
Data emissione	20/07/2026
ID report	AQPMI1-26 F

ORGANIZZATORE	Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie CSI – Centro Specialistico Ittico V.le dell'Università 10 – 35020 LEGNARO (PD) www.izsvenezie.it
RESPONSABILE PT	Giuseppe Arcangeli Tel. 049 8084281 e-mail: garcangeli@izsvenezie.it
RESPONSABILE TECNICO	Alessia Vetri Tel. 049 8084117 e-mail: avetri@izsvenezie.it
RESPONSABILE STATISTICO	Marzia Mancin Tel. 049/8084431 e-mail: mmancin@izsvenezie.it
SEGRETERIA	Alessia Vetri Tel. 049 8084117 e-mail: avetri@izsvenezie.it

Riservatezza:

I laboratori partecipanti, al momento dell'iscrizione al Proficiency Testing AQUA, sono resi anonimi e identificati solo tramite codici alfa-numeric (L000XXX). Nel report definitivo AQUA PM-I, ad ogni laboratorio viene assegnato in modo casuale un codice identificativo specifico per ogni Report.
Tutti gli operatori dell'Organizzazione del Proficiency Testing sono tenuti alla riservatezza sia relativamente alla identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

Layout report: IZS MOD 501 PM-I – rev 00 – 12/25 - Report AQUA PM-I

Sommario

1.	Materiali e metodi	5
1.1	Proprietà e composizione dei campioni	5
1.2	Valori assegnati	6
1.3	Controlli qualità	7
1.4	Distribuzione	7
1.5	Analisi dei campioni	7
1.6	Comunicazione dei risultati	7
2.	Risultati	8
2.1	Set A	8
2.2	Set B	9
2.3	Analisi statistica	10
3.	Discussioni e conclusioni del PT	12

Introduzione

Il presente report descrive le modalità di svolgimento e i risultati relativi al PT AQUA PM-I 1-26, Edizione 2026 organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per lo studio e la diagnosi delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei e rivolto ai laboratori degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (I.I.ZZ.SS.).

5 laboratori hanno aderito all'edizione 2026 del PT PM-I.

L'esercizio si è svolto dal 09/03/2026 al 05/06/2026, data di scadenza per l'esecuzione delle analisi. I risultati sono stati registrati nel portale AQUAWEB entro il 05/06/2026, termine ultimo per l'inserimento degli esiti.

Il PT ha lo scopo di valutare la competenza tecnica dei laboratori nell'identificazione delle infezioni sostenute da *Marteilia* sp. e *Bonamia* sp. mediante la lettura e l'interpretazione di preparati citologici e istologici digitalizzati di ostrica piatta (*Ostrea* sp.), nell'ambito della diagnosi delle malattie dei molluschi elencate nel Regolamento (UE) 2016/429, Annex II.

Il presente PT è formato da un unico schema e articolato in 2 set (Set A e Set B) composti dagli stessi preparati cito-istologici digitalizzati e differenziati esclusivamente per la numerazione assegnata; in particolare:

- 10 preparati istologici digitalizzati di ostrica piatta (*Ostrea* sp.) colorati con ematossilina – eosina
- 10 preparati citologici digitalizzati di ostrica piatta (*Ostrea* sp.) colorati con Hemacolor®

Tabella 1. Scheda descrittiva dello schema AQUA PM-I 1-26.

PROFICIENCY TESTING AQUA PM-I		
SCHEMA	AQUA PM-I	AQUA PM-I
MATRICE	Preparati istologici e citologici digitalizzati	Preparati istologici e citologici digitalizzati
MISURANDO	Identificazione di <i>Marteilia</i> sp.	Identificazione di <i>Bonamia</i> sp.
TECNICA DI PROVA	Lettura cito-istologica	Lettura cito-istologica
ID CAMPIONE	Da Slide 01 a Slide 10	Da Slide 11 a Slide 20

1. Materiali e metodi

1.1 Proprietà e composizione dei campioni

Tabella 2. Proprietà e composizione dei campioni.

Preparati istologici	
Rif. preparato: MR 160	Patogeno: Negativo <i>Marteilia</i> sp. e <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 161	Patogeno: Negativo <i>Marteilia</i> sp. e <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 294	Patogeno: Positivo <i>Marteilia</i> sp. e negativo <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 295	Patogeno: Positivo <i>Marteilia</i> sp. e negativo <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 296	Patogeno: Positivo <i>Marteilia</i> sp. e negativo <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 301	Patogeno: Negativo <i>Marteilia</i> sp. e <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 302	Patogeno: Negativo <i>Marteilia</i> sp. e <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 291	Patogeno: Positivo <i>Bonamia</i> sp. e negativo <i>Marteilia</i> sp.
Rif. preparato: MR 292	Patogeno: Positivo <i>Bonamia</i> sp. e negativo <i>Marteilia</i> sp.
Rif. preparato: MR 293	Patogeno: Positivo <i>Bonamia</i> sp. e negativo <i>Marteilia</i> sp.
Preparati citologici	
Rif. preparato: MR 297	Patogeno: Negativo <i>Marteilia</i> sp. e <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 300	Patogeno: Negativo <i>Marteilia</i> sp. e <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 285	Patogeno: Positivo <i>Marteilia</i> sp. e negativo <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 286	Patogeno: Positivo <i>Marteilia</i> sp. e negativo <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 287	Patogeno: Positivo <i>Marteilia</i> sp. e negativo <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 298	Patogeno: Negativo <i>Marteilia</i> sp. e <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 299	Patogeno: Negativo <i>Marteilia</i> sp. e <i>Bonamia</i> sp.
Rif. preparato: MR 279	Patogeno: Positivo <i>Bonamia</i> sp. e negativo <i>Marteilia</i> sp.
Rif. preparato: MR 280	Patogeno: Positivo <i>Bonamia</i> sp. e negativo <i>Marteilia</i> sp.
Rif. preparato: MR 281	Patogeno: Positivo <i>Bonamia</i> sp. e negativo <i>Marteilia</i> sp.

1.2 Valori assegnati

Il valore assegnato coincide con il valore atteso che è definito dall'Organizzatore, utilizzando procedure analitiche secondo i metodi IFREMER e accreditate ISO/IEC 17025.

Per questa tipologia di PT, non vengono 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. Inoltre, non sono previste procedure statistiche per l'identificazione e gestione di valori anomali ed errori grossolani in quanto non appropriate alla tipologia di risposta richiesta dal PT.

Tabella 3. Determinazioni e valori attesi: Set A e Set B.

Set A: Ricerca di <i>Marteilia</i> sp.			Set B: Ricerca di <i>Marteilia</i> sp.		
Istologico			Istologico		
Slide 01:	MR 294	Positivo	Slide 01:	MR 296	Positivo
Slide 02:	MR 160	Negativo	Slide 02:	MR 294	Positivo
Slide 03:	MR 161	Negativo	Slide 03:	MR 160	Negativo
Slide 04:	MR 295	Positivo	Slide 04:	MR 161	Negativo
Slide 05:	MR 296	Positivo	Slide 05:	MR 295	Positivo
Citologico			Citologico		
Slide 06:	MR 297	Negativo	Slide 06:	MR 287	Positivo
Slide 07:	MR 300	Negativo	Slide 07:	MR 297	Negativo
Slide 08:	MR 285	Positivo	Slide 08:	MR 300	Negativo
Slide 09:	MR 286	Positivo	Slide 09:	MR 285	Positivo
Slide 10:	MR 287	Positivo	Slide 10:	MR 286	Positivo
Set A: Ricerca di <i>Bonamia</i> sp.			Set B: Ricerca di <i>Bonamia</i> sp.		
Istologico			Istologico		
Slide 11:	MR 291	Positivo	Slide 11:	MR 302	Negativo
Slide 12:	MR 301	Negativo	Slide 12:	MR 291	Positivo
Slide 13:	MR 292	Positivo	Slide 13:	MR 301	Negativo
Slide 14:	MR 293	Positivo	Slide 14:	MR 292	Positivo
Slide 15:	MR 302	Negativo	Slide 15:	MR 293	Positivo
Citologico			Citologico		
Slide 16:	MR 279	Positivo	Slide 16:	MR 299	Negativo
Slide 17:	MR 280	Positivo	Slide 17:	MR 279	Positivo
Slide 18:	MR 298	Negativo	Slide 18:	MR 280	Positivo
Slide 19:	MR 281	Positivo	Slide 19:	MR 298	Negativo
Slide 20:	MR 299	Negativo	Slide 20:	MR 281	Positivo

1.3 Controlli qualità

Omogeneità: i campioni distribuiti nell'ambito del presente PT sono costituiti da preparati cito-istologici digitalizzati. A ciascun partecipante sono stati forniti gli stessi files digitalizzati.

Stabilità: la stabilità del materiale digitale è garantita dalla conservazione delle immagini in formato elettronico su piattaforma dedicata. Poiché eventuali criticità potrebbero riguardare la disponibilità e la corretta funzionalità del sistema di visualizzazione piuttosto che il campione stesso, il responsabile tecnico del PT ha verificato la disponibilità dei files digitalizzati e la funzionalità del software Aperio eSlide Manager mediante accesso diretto alla piattaforma con frequenza mensile per tutta la durata del PT.

Nel corso del PT si è verificata una temporanea indisponibilità della visualizzazione dei preparati digitalizzati dovuta a un problema tecnico della piattaforma. La criticità è stata prontamente risolta dal provider del servizio, ripristinando la piena funzionalità del sistema senza conseguenze sul regolare svolgimento del PT.

1.4 Distribuzione

I preparati cito-istologici sono stati digitalizzati con magnificazione 40X utilizzando scanner digitale Aperio LV1 e software Aperio LV1 IVD (Leica Biosystems) e messi a disposizione online su software Aperio eSlide Manager (Leica Biosystems). Il link di accesso al software è stato inviato ad ogni laboratorio partecipante via email insieme alle credenziali di accesso e alle istruzioni di utilizzo del software (documento IZS MOD 511 PM-I- Modalità operative AQUA PM-I) dal responsabile tecnico del PT.

1.5 Analisi dei campioni

I partecipanti hanno eseguito l'identificazione mediante osservazione di preparati cito-istologici digitalizzati con software Aperio LV1 IVD (Leica Biosystems), utilizzando ingrandimenti compresi tra 4X – 40X, dei seguenti agenti parassitari:

- *Marteilia* sp.
- *Bonamia* sp.

1.6 Comunicazione dei risultati

I risultati sono stati trasmessi all'Organizzazione del PT attraverso il portale AQUAWEB nei tempi previsti. Ai partecipanti è stato richiesto di inserire le seguenti informazioni:

- Data inizio analisi
- Data fine analisi
- Risultati

2. Risultati

2.1 Set A

I risultati per il set PM-I 1-26 A sono stati presentati da n° 2 laboratori.

Tabella 4. Risultati del Set A

Slide	Specie	Patogeno	Metodo	Esito atteso	ID1	ID3
Slide 01	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	P	P	P
Slide 02	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	N	N	N
Slide 03	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	N	N	N
Slide 04	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	P	P	P
Slide 05	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	P	P	P
Slide 06	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	N	N	N
Slide 07	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	N	N	N
Slide 08	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	P	N	N
Slide 09	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	P	P	P
Slide 10	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	P	P	P
Slide 11	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	P	P	N
Slide 12	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	N	N	P
Slide 13	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	P	P	P
Slide 14	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	P	N	N
Slide 15	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	N	P	P
Slide 16	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	P	P	P
Slide 17	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	P	P	P
Slide 18	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	N	N	N
Slide 19	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	P	P	P
Slide 20	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	N	N	N

Non evidenziato: risultato corretto; evidenziato: risultato diverso dal valore assegnato.

2.2 Set B

I risultati per il set PM-I 1-26 B sono stati presentati da n°3 laboratori.

Tabella 5. Risultati del Set B

Slide	Specie	Patogeno	Metodo	Esito atteso	ID2	ID4	ID5
Slide 01	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	P	P	P	P
Slide 02	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	P	P	P	P
Slide 03	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	N	N	N	N
Slide 04	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	N	N	N	N
Slide 05	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	istologico	P	P	P	P
Slide 06	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	P	P	P	P
Slide 07	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	N	N	N	N
Slide 08	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	N	N	N	N
Slide 09	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	P	P	N	N
Slide 10	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp.	citologico	P	P	P	P
Slide 11	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	N	P	P	N
Slide 12	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	P	P	N	N
Slide 13	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	N	N	P	N
Slide 14	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	P	P	P	P
Slide 15	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	istologico	P	N	N	P
Slide 16	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	N	N	N	N
Slide 17	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	P	P	P	P
Slide 18	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	P	P	P	P
Slide 19	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	N	N	N	N
Slide 20	<i>Ostrea</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	citologico	P	P	P	P

Non evidenziato: risultato corretto; evidenziato: risultato diverso dal valore assegnato.

2.3 Analisi statistica

L'analisi statistica dei risultati è eseguita in conformità alla norma UNI ISO 13528:2022. I risultati qualitativi dei partecipanti sono confrontati con il valore assegnato coincidente con il valore atteso e definito dall'Organizzatore.

La concordanza tra i risultati e i valori assegnati è stata calcolata per laboratorio rispetto a ciascun patogeno e considerando entrambi i patogeni. Inoltre, il valore della concordanza, la percentuale di campioni positivi (sensibilità) e negativi (specificità) correttamente identificati sono stati determinati per misurare le prestazioni complessive raggiunte per ogni patogeno e per entrambi i patogeni (Tabelle 7,8,9,10,11)

La statistica kappa (k) è stata usata per tenere conto dell'accordo dovuto al caso nella stima statistica dell'affidabilità inter-rater esistente tra ciascun laboratorio e l'Organizzazione (kappa di Cohen), nonché tra tutti i partecipanti (kappa di Fleiss). Il valore del coefficiente k può variare tra -1 e 1; k = 1 implica un perfetto accordo, mentre k = -1 implica un perfetto disaccordo. Se non c'è accordo tra le risposte, se non quello dovuto al caso, allora k = 0. L'interpretazione e la significatività statistica del coefficiente sono date rispettivamente dalla scala di Landis & Koch (Tabella 6) e dal p-value. Un valore di $p \geq 0,05$ è indicativo di accordo dovuto al caso.

Tabella 6. Scala di Landis & Koch per l'interpretazione della statistica k

k	Concordanza
≤ 0	Assente
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

Tabella 7. Statistiche per *Marteilia* sp.

	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5
Concordanza osservata (%)	90,00%	100,00%	90,00%	90,00%	90,00%
N di risposte corrette/N di campioni inviati	(9/10)	(10/10)	(9/10)	(9/10)	(9/10)
kappa	0,80	1,00	0,80	0,80	0,80
p-value	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Interpretazione kappa	Buona	Ottima	Buona	Buona	Buona

Tabella 8. Statistiche per *Bonamia* sp.

	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5
Concordanza osservata (%)	80,00%	80,00%	60,00%	60,00%	90,00%
N di risposte corrette/N di campioni inviati	(8/10)	(8/10)	(6/10)	(6/10)	(9/10)
kappa	0,58	0,58	0,17	0,17	0,80
p-value	0,03	0,03	0,30	0,30	0,00
Interpretazione kappa	Moderata	Moderata	Scarsa	Scarsa	Buona

Tabella 9. Statistiche per *Marteilia* sp. e *Bonamia* sp.

	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5
Concordanza osservata (%)	85,00%	90,00%	75,00%	75,00%	90,00%
N di risposte corrette/N di campioni inviati	(17/20)	(18/20)	(15/20)	(15/20)	(18/20)
kappa	0,69	0,79	0,49	0,49	0,80
p-value	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00
Interpretazione kappa	Buona	Buona	Moderata	Moderata	Buona

Tabella 10. Analisi delle performance complessive per lo schema PM-I

N. Lab Partecipanti	Patogeno	Concordanza osservata (%)	k	p-value	Se (%)	Sp (%)
5	<i>Marteilia</i> sp.	92,00%	0,92	0,00	86,67%	100,00%
5	<i>Bonamia</i> sp.	74,00%	0,59	0,00	76,67%	70,00%
5	Complessivo	83,00%	0,76	0,00	81,67%	85,00%

N. Lab Partecipanti = numero di laboratori che hanno dato una risposta completa

Tabella 11. Tabella di sintesi basata sulla Valutazione di kappa di Cohen

ID Lab Partecipanti	<i>Marteilia</i> sp.	<i>Bonamia</i> sp.	<i>Marteilia</i> sp. + <i>Bonamia</i> sp.
ID1	Buona	Moderata	Buona
ID2	Ottima	Moderata	Buona
ID3	Buona	Scarsa	Moderata
ID4	Buona	Scarsa	Moderata
ID5	Buona	Buona	Buona

Non evidenziato: concordanza Ottima; evidenziato in arancione chiaro: concordanza Buona o Moderata; evidenziato in arancione scuro: concordanza Discreta, Scarsa o Assente.

3. Discussioni e conclusioni del PT

La concordanza **ottima** ottenuta dai laboratori partecipanti per *Marteilia* sp. è risultata statisticamente significativa, evidenziando un'elevata capacità diagnostica nella corretta identificazione del patogeno mediante lettura cito-istologica digitalizzata. La sensibilità complessiva (86,67%) e la specificità (100%) confermano l'affidabilità delle prestazioni ottenute per questo agente patogeno.

La concordanza **moderata** ottenuta dai laboratori partecipanti per *Bonamia* sp. è risultata anch'essa statisticamente significativa. Le prestazioni complessive (sensibilità 76,67% e specificità 70,00%) suggeriscono una maggiore difficoltà nell'identificazione di questo patogeno.

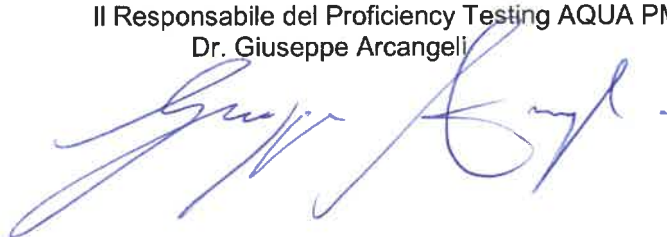
Nel complesso, il PT ha evidenziato una buona concordanza globale tra i laboratori partecipanti ($k = 0,76$), confermando un livello soddisfacente di competenza nella diagnosi istologica e citologica delle infezioni da *Marteilia* sp. e *Bonamia* sp. I risultati ottenuti evidenziano tuttavia l'opportunità di rafforzare la formazione per la diagnosi di *Bonamia* sp. di 2 laboratori (ID3 e ID4) che hanno ottenuto concordanza **scarsa**. La concordanza scarsa calcolata è dovuta al caso ($p\text{-value} > 0,05$).

Il CRN mette a disposizione dei partecipanti un servizio di Follow-up per il quale il partecipante che non ha ottenuto esiti soddisfacenti potrà fare richiesta allo scopo di mettere in atto eventuali misure correttive/migliorative o di adeguamento delle metodiche.

La richiesta può essere presentata contattando la Segreteria del PT.

Data report finale 20/07/2026

Il Responsabile del Proficiency Testing AQUA PM-I
Dr. Giuseppe Arcangeli



----- Fine Report finale -----