



Circuito interlaboratorio  
per l'assicurazione qualità  
dei risultati

Circuito interlaboratorio per la diagnosi della rabbia  
**Report definitivo schema AQUA RV-D 1-20**  
Dicembre 2020

Responsabile Circuito interlaboratorio AQUA per la diagnosi della rabbia (AQUA RV-D)  
*Dr.ssa Paola De Benedictis* *Tel. 049/8084385*  
*e-mail [pdebenedictis@izsvenezie.it](mailto:pdebenedictis@izsvenezie.it)*

Responsabile tecnico  
*Dr.ssa Barbara Zecchin* *Tel. 049/8084387*  
*e-mail [bazecchin@izsvenezie.it](mailto:bazecchin@izsvenezie.it)*

Responsabile statistico  
*Dr.ssa Mancin Marzia* *Tel.049/8084431*  
*e-mail [mmancin@izsvenezie.it](mailto:mmancin@izsvenezie.it)*

Segreteria  
*Dr.ssa Paola Mozzi* *Tel. 049 8084371-369*  
*e-mail [pmozzi@izsvenezie.it](mailto:pmozzi@izsvenezie.it)*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie  
Centro di Referenza Nazionale per la rabbia  
V.le dell'Università 10 – 35020 LEGNARO (PD)  
[www.izsvenezie.it](http://www.izsvenezie.it)

### Sommario

<b>Introduzione .....</b>	<b>4</b>
<b>1 Caratteristiche, composizione e controllo dei campioni .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Composizione dei campioni prova .....</b>	<b>4</b>
Tabella 1. Informazioni sulla composizione del pannello del circuito interlaboratorio AQUA RV-D 1-20. .....	5
<b>1.2 Prove di omogeneità e stabilità.....</b>	<b>5</b>
<b>2 Istruzioni per la preparazione e utilizzo dei campioni prova fornite ai partecipanti .....</b>	<b>5</b>
<b>3 Valori assegnati.....</b>	<b>6</b>
<b>3.1 Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance.....</b>	<b>6</b>
<b>3.2 Criteri di accettabilità .....</b>	<b>6</b>
<b>4 Elenco dei laboratori partecipanti (in ordine alfabetico) .....</b>	<b>7</b>
<b>5 Risultati .....</b>	<b>7</b>
<b>5.1 Emissione report parziale .....</b>	<b>7</b>
<b>5.2 Risultati ottenuti mediante metodica IF .....</b>	<b>7</b>
Tabella 2. Risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio AQUA RV-D: identificazione dell'antigene virale mediante IF. ....	8
Tabella 3. Valori di K e significatività (p-value) ottenuti nell'ambito del circuito interlaboratorio RV-D: identificazione dell'antigene virale mediante IF. ....	8
<b>5.3 Risultati ottenuti mediante metodica RTCIT.....</b>	<b>8</b>
Tabella 4. Risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio RV-D: isolamento virale in colture cellulari mediante RTCIT.....	9
Tabella 5. Valori di K e significatività (p-value) ottenuti nell'ambito del circuito interlaboratorio RV-D: isolamento del virus della rabbia in colture cellulari mediante RTCIT. ....	9
<b>5.4 Risultati ottenuti mediante metodica molecolare .....</b>	<b>9</b>
Tabella 6. Risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio AQUA RV-D: identificazione dell'RNA virale mediante metodi molecolari.....	10
Tabella 7. Valori di K e significatività (p-value) ottenuti nell'ambito del circuito interlaboratorio RV-D: identificazione dell'RNA virale mediante metodi molecolari.....	10
<b>6 Commenti generali sulla quantificazione dell'antigene virale.....</b>	<b>10</b>
<b>6.1 Quantificazione dell'antigene virale .....</b>	<b>10</b>
<b>6.2 Risultati della quantificazione dell'antigene virale .....</b>	<b>11</b>
Tabella 8. Risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio AQUA RV-D: valutazione quantitativa dell'antigene virale mediante IF.....	11
<b>7 Discussione e raccomandazioni .....</b>	<b>11</b>
Figura 1. Performance complessive dei partecipanti con metodica <i>gold standard</i> IF anni 2015-2020.	12
<b>8 Informativa sulla privacy .....</b>	<b>12</b>



## Report definitivo

### Introduzione

A partire dall'anno 2014, il centro di referenza nazionale per la rabbia (CRN), nell'ambito dei propri incarichi, organizza un circuito interlaboratorio per la diagnosi di rabbia animale, con l'obiettivo di valutare ed armonizzare le prestazioni tecniche dei laboratori nazionali sulle metodiche di riferimento.

Il requisito minimo per partecipare al circuito è stata la dichiarazione, da parte del laboratorio partecipante, che il personale coinvolto nelle prove sia stato vaccinato e presenti un titolo anticorpale post vaccinale superiore a 0,5 UI/ml con verifica dello stesso effettuata da un massimo di sei mesi (D. Lgs. 9 Aprile 2008, n. 81).

Al circuito 2020 organizzato in un unico schema (RV-D 1-20) hanno partecipato 7 laboratori appartenenti alla rete degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (I.I.ZZ.SS.) (vedi paragrafo 4). Tutti i partecipanti iscritti hanno inviato i propri risultati.

Al fine di tutelare la riservatezza dei dati, nel presente documento i laboratori partecipanti sono resi anonimi e identificati esclusivamente tramite codice alfa-numeric.

Tutti gli operatori dell'Organizzazione del circuito interlaboratorio AQUA RV-D sono tenuti alla riservatezza sia relativamente alla identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

## 1 Caratteristiche, composizione e controllo dei campioni

### 1.1 Composizione dei campioni prova

Tredici campioni diagnostici, identificati da un codice alfanumerico, sono stati inviati a ciascun laboratorio partecipante. Al fine di ottenere campioni di prova simili alla matrice esaminata nella routine diagnostica, i campioni di prova sono stati ottenuti a partire da encefalo di mammifero. Nello specifico, i campioni positivi sono stati ottenuti miscelando encefalo di topo infettato sperimentalmente, con encefalo di carnivori conferiti dal territorio nell'ambito della sorveglianza e precedentemente identificati come negativi per la rabbia. I campioni negativi sono stati ottenuti da encefalo di carnivori conferiti dal territorio nell'ambito della sorveglianza e precedentemente identificati come negativi per la rabbia.

Una terza tipologia di campione è stata inclusa nel pannello, composto come di seguito descritto: encefalo di carnivoro negativo per rabbia, addizionato con RNA sintetico del gene codificante per la nucleoproteina di lyssavirus (1564 paia di basi). La **tabella 1** riporta la composizione del pannello del circuito 2020. Tutti i ceppi utilizzati appartengono al filogruppo I del genere Lyssavirus, per il quale il vaccino umano conferisce protezione efficace (Evans *et al.*, 2012).

I controlli di riferimento positivo e negativo sono stati inviati solo ai partecipanti che ne avevano precedentemente fatto richiesta. I controlli positivo e negativo di riferimento sono stati ottenuti, rispettivamente, da encefalo di topo infettato sperimentalmente o da encefalo di topo non infetto.

**Tabella 1. Informazioni sulla composizione del pannello del circuito interlaboratorio AQUA RV-D 1-20.**

Virus	Lineaggio	Origine
Bokeloh Bat Lyssavirus	--	France 2012
Rabies Virus	Cosmopolitan (Western Europe)	Italy 2010
Rabies Virus	Africa 2	Guinea 2018
Rabies Virus	Cosmopolitan (Africa 1)	Italy ex-Zanzibar 2019
Rabies Virus	American indigenous	Brazil 2010
European Bat 2 Lyssavirus	Lineage a	UK 2002

## 1.2 Prove di omogeneità e stabilità

Le prove di omogeneità e stabilità sono state eseguite con le seguenti metodiche:

- Diagnosi della Rabbia mediante test di immunofluorescenza Diretta (OIE Manual for Terrestrial Animals Cap 3.1.17 par B.1.3.1.i 2018)  
*PDP VIR 027 rev. 07*
- Isolamento del virus della Rabbia in colture cellulari (OIE Manual for Terrestrial Animals Cap 3.1.17 par B.1.3.2.i 2018)  
*PDP VIR 029 rev. 06*
- One Step RT-PCR per l'identificazione e la tipizzazione dei virus della rabbia  
*PDP VIR 034 rev.00*

I campioni prova risultano omogenei e stabili in quanto concordi con il risultato atteso.

Le informazioni relative alle prove di stabilità e omogeneità sono disponibili, su richiesta, presso l'organizzatore.

Le prove previste dal circuito sono state pertanto le seguenti:

- Test di immunofluorescenza diretta (obbligatoria per la partecipazione al test interlaboratorio);
- Isolamento virale su colture cellulari (facoltativo);
- Metodica molecolare (facoltativo).

L'esito del test di immunofluorescenza diretta (IF), *gold standard* per la diagnosi della rabbia (OIE, 2018), è di tipo qualitativo, inteso come positivo oppure negativo. Ad ogni laboratorio partecipante è stato inoltre richiesto di assegnare un numero da 1 a 4 indicante la quantità (proporzionalmente crescente) di reazione di immunofluorescenza specifica osservata in ogni campione prova, assumendo come riferimento il controllo positivo con reazione pari a 3-4. La prova di valutazione quantitativa dell'antigene virale non è stata considerata ai fini della determinazione dell'esito delle performance di ciascun laboratorio, ma solo come valutazione addizionale di carattere informativo.

Ai laboratori partecipanti è stato inoltre richiesto facoltativamente di analizzare i campioni presenti nel pannello mediante metodica di isolamento su colture cellulari del virus della rabbia (RTCIT) (OIE, 2018) e/o mediante metodica biomolecolare, per quest'ultima con la richiesta di specificare i riferimenti bibliografici.

## 2 Istruzioni per la preparazione e utilizzo dei campioni prova fornite ai partecipanti

Ciascun campione prova deve essere risospeso in 0,5 ml di acqua distillata sterile, utilizzando una siringa monouso per ciascuna provetta, prima dell'esecuzione della prova.

Per ulteriori specifiche fare riferimento alle indicazioni riportate in Aquaweb, all'interno dell'area riservata di ciascun laboratorio.



Il partecipante era tenuto ad utilizzare la metodica *gold standard* di immunofluorescenza diretta (IF) e poteva applicare uno o più metodi di conferma a sua scelta tra isolamento in colture cellulari (RTCIT) e/o una metodica di biologia molecolare.

Periodo per l'esecuzione delle prove: dal 14/07/2020 al 08/09/2020.

L'invio dei pannelli è avvenuto ai laboratori il 14 luglio 2020, con termine fissato per l'invio dei risultati al 08 settembre 2020. La conferma di ricezione e integrità del pannello è stata inviata da tutti i laboratori all'ente organizzatore entro 2 giorni dall'invio.

Contestualmente all'invio dei campioni, ciascun laboratorio partecipante è stato invitato a visionare e/o compilare la seguente documentazione disponibile in Aquaweb:

- Modulo di conferma della ricezione del pannello
- Istruzioni per la corretta procedura di analisi e conservazione dei liofilizzati.

### 3 Valori assegnati

Per le prove qualitative di identificazione virale, test di immunofluorescenza diretta, isolamento virale in colture cellulari e one-step RT-PCR del circuito interlaboratorio AQUA RV-D, il valore assegnato coincide con il valore atteso che è definito dall'organizzatore del circuito, in quanto derivante dalla conoscenza della preparazione dei campioni prova da analizzare e/o dall'utilizzo di materiale di riferimento.

Per questa tipologia di circuiti interlaboratorio, 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 circuito interlaboratorio

#### 3.1 Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance

Per ogni laboratorio partecipante è stata calcolata la statistica K di Cohen, che indica il grado di accordo tra i risultati forniti dal laboratorio in esame e gli esiti attesi, fornendo una valutazione individuale di performance. La statistica K è stata anche calcolata per valutare il grado di accordo tra i laboratori partecipanti, fornendo in questo modo una valutazione di performance dell'intero circuito. Tale calcolo è stato eseguito sugli esiti qualitativi ottenuti mediante IF e RTCIT per i laboratori in grado di effettuare quest'ultima analisi. Ad ogni valore di K è associata la significatività (*p-value*) che indica se l'accordo osservato è reale o semplicemente dovuto al caso. A scopo interpretativo della statistica K, si suggerisce l'utilizzo della scala di *Landis & Koch* così strutturata:

#### 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

#### 3.2 Criteri di accettabilità

La prestazione dei laboratori che abbiano raggiunto almeno una concordanza BUONA (K=0,61-0,80) è ritenuta ACCETTABILE per il circuito interlaboratorio AQUA RV-D.

Tuttavia, indipendentemente dal valore di concordanza ottenuto, l'esito del circuito è considerato NON FAVOREVOLE per quei laboratori che abbiano fallito nell'identificazione di uno o più campioni positivi (presenza di uno o più FALSI NEGATIVI), considerata la rilevanza in termini di sanità pubblica della mancata identificazione di un caso di rabbia.

#### 4 Elenco dei laboratori partecipanti (in ordine alfabetico)

- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, IZSAM, sede di Teramo
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e Toscana, IZSLT, sede di Roma
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, IZSLER, sede di Brescia
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, IZS MEZZOGIORNO, sede di Portici
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, IZSPLV, sede di Torino
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, IZS SICILIA, sede Palermo
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, IZSUM, sede di Perugia

#### 5 Risultati

##### 5.1 Emissione report parziale

Attraverso Aquaweb, in data 18 settembre 2020, è stato inviato un report parziale contenente l'esito atteso di ciascun campione del circuito. In tal modo, ogni laboratorio partecipante ha potuto verificare la concordanza o la discordanza tra i propri risultati e gli esiti attesi riportati in una tabella riassuntiva.

##### 5.2 Risultati ottenuti mediante metodica IF

Nel circuito 2020, cinque dei sette laboratori partecipanti sono stati in grado di identificare correttamente tutti i campioni diagnostici come positivi oppure negativi mediante IF. Due laboratori hanno ottenuto esito non corretto nell'identificazione dell'antigene per un solo campione del pannello (falso positivo).

I risultati complessivi della prova di IF sono riportati nella **tabella 2**.

La statistica K, calcolata per valutare le prestazioni di ogni laboratorio, indica che i laboratori partecipanti hanno mostrato "ottima" concordanza con l'esito atteso. Considerando i dati complessivi di tutti i laboratori, il valore di concordanza dell'intero circuito è risultato pari a 0,9049 ( $p=0,0000$ ) (**tabella 3**).

**Tabella 2. Risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio AQUA RV-D: identificazione dell'antigene virale mediante IF.**

Identificativo campione	ATTESO	L000396	L000438	L000456	L000545	L000549	L000633	L000635
C1	N	N	N	P	N	N	N	N
C2	P	P	P	P	P	P	P	P
C3	P	P	P	P	P	P	P	P
C4	N	N	N	N	N	N	N	P
C5	N	N	N	N	N	N	N	N
C6	P	P	P	P	P	P	P	P
C7	P	P	P	P	P	P	P	P
C8	P	P	P	P	P	P	P	P
C9	N	N	N	N	N	N	N	N
C10	N	N	N	N	N	N	N	N
C11	P	P	P	P	P	P	P	P
C12	P	P	P	P	P	P	P	P
C13	P	P	P	P	P	P	P	P

**Tabella 3. Valori di K e significatività (p-value) ottenuti nell'ambito del circuito interlaboratorio RV-D: identificazione dell'antigene virale mediante IF.**

Statistiche	L000396	L000438	L000456	L000545	L000549	L000633	L000635	Complessivo
<b>Kappa</b>	1,0000	1,0000	0,8312	1,0000	1,0000	1,0000	0,8312	0,9049
<b>p-value</b>	0,0002	0,0002	0,0012	0,0002	0,0002	0,0002	0,0012	0,0000

### 5.3 Risultati ottenuti mediante metodica RTCIT

Quattro laboratori su sette hanno partecipato al circuito anche mediante prova di isolamento virale su coltura cellulare e tutti hanno risposto correttamente, essendo stati in grado di identificare correttamente tutti i campioni diagnostici.

La statistica K calcolata per valutare la performance di ogni laboratorio nell'isolamento virale su coltura cellulare indica che 4 su 4 laboratori partecipanti hanno pertanto ottenuto una concordanza "ottima". Il valore di concordanza complessivo del circuito per tale metodica è risultato pari a 1,00 ( $p=0,0000$ ) (**Tabella 4 e 5**).



**Tabella 4. Risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio RV-D: isolamento virale in colture cellulari mediante RTCIT.**

Identificativo campione	ATTESO	L000396	L000438	L000545	L000549
C1	N	N	N	N	N
C2	P	P	P	P	P
C3	P	P	P	P	P
C4	N	N	N	N	N
C5	N	N	N	N	N
C6	P	P	P	P	P
C7	P	P	P	P	P
C8	P	P	P	P	P
C9	N	N	N	N	N
C10	N	N	N	N	N
C11	P	P	P	P	P
C12	P	P	P	P	P
C13	P	P	P	P	P

**Tabella 5. Valori di K e significatività (p-value) ottenuti nell'ambito del circuito interlaboratorio RV-D: isolamento del virus della rabbia in colture cellulari mediante RTCIT.**

Statistiche	L000396	L000438	L000545	L000549	Complessivo
<b>Kappa</b>	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,000
<b>p-value</b>	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0000

#### 5.4 Risultati ottenuti mediante metodica molecolare

Nel circuito 2020, solo due laboratori su sette hanno utilizzato metodiche di biologia molecolare per l'identificazione dei campioni del pannello (**tabella 6**), solo uno dei due ha risposto alla richiesta di specificare i riferimenti bibliografici indicando una metodica di rRT-PCR.

Un laboratorio ha identificato correttamente tutti i campioni mentre l'altro laboratorio non ha identificato correttamente 3 campioni sui 13 componenti il pannello (falsi positivi).

La statistica K calcolata per valutare le prestazioni di ciascun partecipante indica che un solo laboratorio ha dimostrato un'ottima concordanza pari a 1,00 ( $p=0,0002$ ) (**tabella 7**). Le restanti statistiche non risultano essere significative ( $p > 0,05$ ) ad indicare un accordo dovuto al caso.

**Tabella 6. Risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio AQUA RV-D: identificazione dell'RNA virale mediante metodi molecolari.**

Identificativo campione	ATTESO	L000438	L000545
C1	N	N	N
C2	P	P	P
C3	P	P	P
C4	P	P	P
C5	N	P	N
C6	P	P	P
C7	P	P	P
C8	P	P	P
C9	N	P	N
C10	N	P	N
C11	P	P	P
C12	P	P	P
C13	P	P	P

**Tabella 7. Valori di K e significatività (p-value) ottenuti nell'ambito del circuito interlaboratorio RV-D: identificazione dell'RNA virale mediante metodi molecolari.**

Statistiche	L000438	L000545	Complessivo
<b>Kappa</b>	0,3158	1,0000	0,32
<b>p-value</b>	0,0592	0,0002	0,06

## 6 Commenti generali sulla quantificazione dell'antigene virale

In analogia con altri test interlaboratorio per la diagnosi della rabbia mediante metodica di immunofluorescenza e al fine di identificare eventuali criticità, il Responsabile del circuito interlaboratorio AQUA RV- D ritiene utile dare indicazioni sul valore di immunofluorescenza rilevato, attraverso la stima della quantificazione dell'antigene virale.

### 6.1 Quantificazione dell'antigene virale

I risultati di quantificazione dell'antigene virale mediante test IF ottenuti per ogni campione analizzato, sono stati comparati a quelli ottenuti dall'organizzatore del circuito interlaboratorio al fine di fornire un'ulteriore indicazione della prestazione individuale. Tale indicazione è stata ottenuta valutando l'idoneità dell'intensità di fluorescenza riportata dal partecipante, nel seguente modo:

- Idonea al 100% nel caso in cui il valore di intensità riportato sia incluso nell'intervallo identificato dal range di accettabilità definito dall'organizzatore del circuito (min-max);
- Idonea all'80% nel caso in cui il valore di intensità di fluorescenza esca dall'intervallo identificativo del range di accettabilità (min-max) di una quantità pari a 1;
- Non idonea in tutti gli altri casi.

Il punteggio complessivo viene classificato dal responsabile del circuito interlaboratorio nel seguente modo:

Punteggio <4 Scarso

Punteggio da 5 a 7 Sufficiente

Punteggio da 8 a 10 Buono

Punteggio da 11 a 13 Ottimo.

La quantificazione del segnale è stata ritenuta soddisfacente quando il punteggio complessivo è >8.

## 6.2 Risultati della quantificazione dell'antigene virale

La quantificazione dell'antigene virale risulta soddisfacente per tutti i laboratori partecipanti. In dettaglio, 6 laboratori hanno ottenuto un ottimo punteggio complessivo e 1 laboratorio ottenuto ha un punteggio buono. (Tabella 8).

**Tabella 8. Risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio AQUA RV-D: valutazione quantitativa dell'antigene virale mediante IF.**

Identificativo campione	ATTESO	Range accettabilità		L000396	L000438	L000456	L000545	L000549	L000633	L000635
C1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
C2	2	1	2	3	1	3	2	3	3	4
C3	2	1	3	4	2	3	1	1	4	2
C4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C6	2	2	3	4	2	2	3	2	4	3
C7	2	1	2	4	3	2	3	4	4	4
C8	3	3	4	4	3	3	4	2	3	3
C9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C11	2	2	3	4	3	3	2	1	4	4
C12	3	2	3	3	2	4	3	2	4	4
C13	3	2	3	4	4	3	4	4	3	3
<b>Punteggio</b>				<b>11</b>	<b>12,6</b>	<b>11,6</b>	<b>12,6</b>	<b>11,2</b>	<b>11</b>	<b>9,6</b>

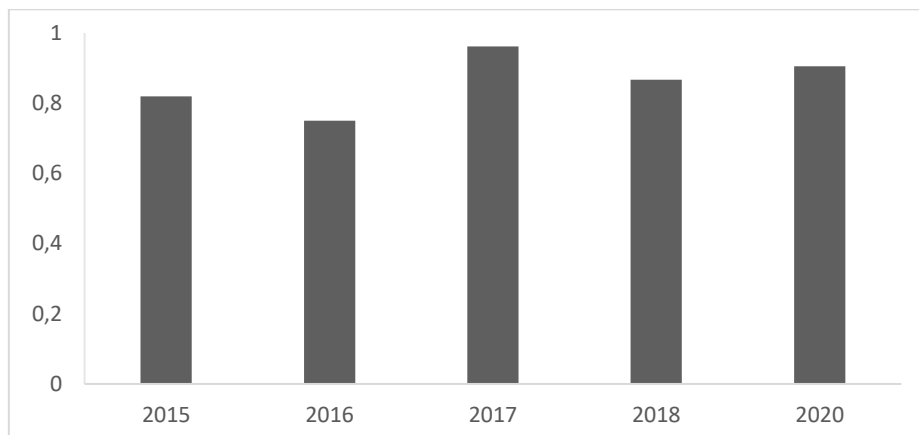
## 7 Discussione e raccomandazioni

I risultati del circuito RV-D 1-20 dimostrano un complessivo mantenimento delle performance dei laboratori afferenti.

Con un accuratezza totale del 97,80%, il grado di accordo tra i 7 laboratori partecipanti nell'identificazione dell'antigene virale mediante IF è stato complessivamente "ottimo".

Per quanto riguarda i due casi di incorretta classificazione, nel caso del laboratorio L000456 è da ricondurre ad un campione negativo (falso positivo- FP) con colorazione gialla aspecifica, molto frequente nella casistica diagnostica, mentre per quanto riguarda il laboratorio L000635 è da ricondurre ad un campione negativo (falso positivo- FP).

Nel complesso, le performance dei laboratori partecipanti risultano essere soddisfacenti per quanto riguarda la metodica *gold standard* immunofluorescenza, specialmente negli ultimi 3 anni, dove la performance complessiva è sempre risultata ottima (**figura 1**).



**Figura 1. Performance complessive dei partecipanti con metodica *gold standard* IF anni 2015-2020.**

Per quanto riguarda l'identificazione virale mediante metodica di isolamento in colture cellulari, 4 laboratori su 7 hanno partecipato riconoscendo correttamente tutti i campioni diagnostici come positivi oppure negativi. Con una accuratezza complessiva del 100% e con una  $K=1$  i laboratori dimostrano un'ottima competenza.

Come suggerito dalle linee guida internazionali, quest'anno il Centro di Referenza Nazionale ha proposto ai laboratori partecipanti l'utilizzo di un metodo alternativo di biologia molecolare, seguendo un protocollo a loro scelta, per l'identificazione dei campioni del pannello inviato. Solo due laboratori afferenti al circuito hanno aderito con i seguenti risultati: il laboratorio L000545 ha identificato correttamente tutti i campioni mentre il laboratorio L000438 ha ottenuto una discreta concordanza con i risultati attesi, identificando erroneamente 3 campioni negativi (falso positivo- FP). Le false positività riscontrate possono essere ricondotte ad una o più delle seguenti cause:

- cross-contaminazioni tra campioni e/o controllo positivo di amplificazione;
- non corretta identificazione dei campioni al momento dell'apertura del pannello;
- non conformità di attrezzature e/o reagenti utilizzati nella prova;
- esperienza degli operatori nell'interpretare i risultati e nell'utilizzo di metodiche di biologia molecolare.

Nel complesso, sono ancora pochi i laboratori che applicano metodiche alternative di conferma al *gold standard*. In particolare, si raccomanda ai partecipanti l'acquisizione di almeno una metodica alternativa all'immunofluorescenza, con particolare riferimento alla metodica biomolecolare, che può essere applicata nell'ambito della sorveglianza passiva di animali ritrovati morti, riesumati, in presenza di processi autolitici e per volumi ridotti di campione encefalico a disposizione.

Relativamente alla protezione del personale di laboratorio, ai sensi del D. Lvo 81/2008, si ricorda l'obbligo di ciascun ente di assicurare la protezione e la prevenzione del personale, nella fattispecie la vaccinazione antirabbica pre-esposizione e la relativa valutazione semestrale della risposta anticorpale di tutto il personale coinvolto. Il CRN è disponibile a supportare ed assicurare la sicurezza degli operatori mediante detta valutazione anticorpale.

Il Centro di Referenza Nazionale per la rabbia mette a disposizione dei partecipanti un servizio di *follow-up* per il quale il partecipante potrà fare richiesta allo scopo di mettere in atto eventuali misure correttive/migliorative.

## 8 Informativa sulla privacy

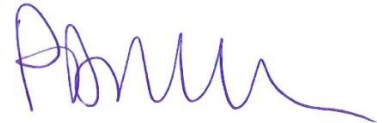
### **Ai sensi degli artt. 13 e 14 Reg UE 2016/679 si rende la presente informativa privacy.**

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

IZSVE – Centro di Referenza Nazionale per la rabbia  
Report definitivo del 07/12/2020

Direttore generale e legale rappresentante protempore tel 049 8084242, email dirgen@izsvenezie.it. Dati del Responsabile della protezione dei dati (RPD/DPO): Avv. Piergiovanni Cervaro, 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 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.

Data report definitivo 07/12/2020



Il Responsabile del Circuito Interlaboratorio AQUA RV-D  
Dr.ssa Paola De Benedictis

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