



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 1-24, IN-S 1- 24, IN-M 1-24

Anno erogazione 2024

RESPONSABILE CIRCUITO

Calogero Terregino, DVM, PhD
cterregino@izsvenezie.it
Tel. +39 049 8084377

RESPONSABILE TECNICO

Viviana Valastro, PhD (AQUA IN-M)
vvalastro@izsvenezie.it
Tel. +39 049 8084118

Crispina Veggiato (AQUA IN-V, AQUA IN-S)
cveggiato@izsvenezie.it
Tel. +39 049 8084375

RESPONSABILE STATISTICO

Marzia Mancin, MSc
mmancin@izsvenezie.it
Tel. +39 049 8084431

SEGRETERIA

Paola Mozzi
aqua-vs@izsvenezie.it; pmozzi@izsvenezie.it
Tel. +39 049 8084369-371

Sommario

Abbreviazioni	4
INTRODUZIONE.....	5
1. Materiali e Metodi	6
1.1 Proprietà e composizione dei campioni.....	6
1.1.1 Schema IN-M.....	6
1.1.2 Schema IN-V	6
1.1.3 Schema IN-S	7
1.2 Valore assegnato.....	7
1.3 Controllo qualità.....	7
1.4 Distribuzione	7
1.5 Analisi dei campioni	7
1.6 Comunicazione dei risultati	8
1.7 Valutazione dei risultati	8
2. Risultati.....	15
2.1 Schema AQUA IN-M.....	15
2.2 Schema AQUA IN-V	24
2.3 Schema AQUA IN-S	28
3. Discussioni	33
3.1 Schema AQUA IN-M.....	33
3.2 Schema AQUA IN-V	33
3.3 Schema AQUA IN-S	33
4. Conclusioni.....	36
5. Informativa sulla privacy	36
6. Bibliografia.....	37
APPENDICE I	38
Schema AQUA IN-M.....	39
Schema AQUA IN-V	42
Schema AQUA IN-S	44

Abbreviazioni

AGID	Agar Gel Immuno-Diffusione
BSL3	Laboratorio di Biosicurezza livello 3
Ct	Cycle threshold – Ciclo soglia
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
HPAI	Highly Pathogenic Avian Influenza
LPAI	Low Pathogenic Avian Influenza
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SPF	Specific Pathogen Free



Report definitivo

INTRODUZIONE

Il Centro di Referenza Nazionale (CRN) per l'Influenza Aviaria e la Malattia di Newcastle, ospitato presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, ha organizzato il circuito interlaboratorio AQUA IN "Virologia, Sierologia e Biologia molecolare per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle" per i laboratori ufficiali del territorio nazionale in linea con il Regolamento (UE) 2017/625. La partecipazione era estesa anche ad altri laboratori la cui adesione era su base volontaria. L'obiettivo del programma era quello di valutare e migliorare, se necessario, la capacità dei laboratori partecipanti di diagnosticare le infezioni da virus dell'influenza aviaria di tipo A (AIVs) e orthoavulavirus aviario 1 (APMV-1).

Il programma consisteva di tre schemi qualitativi erogati simultaneamente e progettati per le seguenti rilevazioni:

- IN-M 1-24 "Identificazione del genoma di virus dell'influenza aviaria (influenza tipo A) e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)";
- IN-V 1-24 "Identificazione di antigeni emoagglutinanti ottenuti da virus dell'influenza aviaria (influenza tipo A) e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)";
- IN-S 1-24 "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)".

I partecipanti sono stati invitati a fornire un'interpretazione qualitativa dei risultati e sono stati informati del fatto che qualsiasi valore quantitativo trasmesso (Ct e/o titoli HA/HI) sarebbe stato utilizzato solo per fornire loro un feedback sulle prestazioni dei test applicati.

Ventuno (21) laboratori hanno aderito all'edizione 2024 del circuito, tra cui diciotto (18) appartenenti a Istituti Zooprofilattici Sperimentali (I.I.ZZ.SS.) e tre (3) laboratori privati (Tabella 1). I campioni sono stati spediti il 4 marzo per garantire che tutti i partecipanti ricevessero i campioni in tempo per iniziare l'esercizio. Nessuna anomalia rispetto a contenuto e condizione dei campioni è stata segnalata dai partecipanti.

L'esercizio si è svolto dall'11 marzo al 10 maggio 2024, data di scadenza per la presentazione dei risultati. Tutti i laboratori hanno rispettato il termine stabilito.

In data 17 maggio è stato pubblicato in AQUAWEB il report parziale contenente la composizione dei campioni e i valori assegnati. A causa di incongruenze nei dati riportati, il report è stato rimesso il 20 maggio.

Il presente report mostra i risultati che sono stati classificati come corretti o non corretti in base ai valori assegnati dall'Organizzazione. Per misurare le prestazioni del laboratorio sono stati utilizzati il K-Cohen e il relativo valore di significatività. Al fine di mantenere la riservatezza, nel presente documento i risultati di ogni laboratorio partecipante sono identificati da un codice alfanumerico che è stato assegnato a ciascuno di essi al momento della registrazione e che consente di riportare i risultati senza rivelare l'identità dei partecipanti.

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

Tabella 1. Partecipanti.

Laboratorio/Istituto
Agricola Tre Valli - Verona
Gesco Consorzio Cooperativo - Brescia
IZSAM - Sede centrale di Teramo
IZSLER - Sede centrale di Brescia
IZSLER - Sezione di Forlì
IZSLER - Sezione di Mantova
IZSLER - Sezione di Parma
IZSLT - Sede centrale di Roma
IZSM - Sede centrale di Portici, Napoli
IZSM - Sezione di Catanzaro (UOS diagnostica)
IZSM - Sezione di Catanzaro (laboratorio sierologia)
IZSPB - Sede centrale di Foggia
IZSPLV - Sede centrale di Torino
IZSPLV - Sezione di Genova
IZS Sardegna - Sede centrale di Sassari
IZS Sicilia - Sede centrale di Palermo
IZSUM - Sede centrale di Perugia (laboratorio sierologia)
IZSUM - Sede centrale di Perugia (laboratorio virologia)
IZSUM - Sezione di Fermo (laboratorio diagnostica integrata)
IZSve - Sezione di Verona
Vallerana Srl - Cremona

1. Materiali e Metodi

1.1 Proprietà e composizione dei campioni

Quando possibile, i campioni rispecchiavano la natura dei campioni di routine.

1.1.1 Schema IN-M

Il materiale da analizzare consisteva di isolati virali derivati dalla propagazione di ceppi selezionati di AI e APMV-1 nella cavità allantoidea di uova di pollo embrionate SPF di 9-11 giorni. In caso di campioni negativi, è stato utilizzato il liquido allantoideo di uova di pollo SPF non infette. I campioni sono stati spediti in un terreno commerciale a base di guanidinio tiocianato, che garantisce l'inattivazione del virus e la stabilizzazione dell'RNA virale, ed erano pronti per essere processati mediante estrazione degli acidi nucleici. Il pannello era composto da tredici (13) campioni da 1 ml ciascuno, tra cui otto (8) isolati di influenza aviaria, quattro (4) APMVs-1 e un campione negativo. La composizione completa del pannello e i valori assegnati sono riportati nella Tabella 2.

1.1.2 Schema IN-V

Il materiale da analizzare consisteva di antigeni inattivati chimicamente con lo 0,05% di β -propiolattone e ottenuti dalla propagazione di ceppi virali AI e APMV nella cavità allantoidea di uova di pollo embrionate SPF di 9-11 giorni. In caso di campioni negativi, è stato utilizzato il liquido allantoideo di uova di pollo non infette. I campioni sono stati distribuiti in forma liofila e dovevano essere ricostituiti in 1 ml di acqua distillata immediatamente prima del test. Il pannello era composto

IZSVe – Centro di Referenza Nazionale per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle
Report definitivo emesso il 19/07/2024

da dodici (12) campioni, tra cui otto (8) isolati di influenza aviaria, due (2) APMV-1 e due (2) campioni negativi. La composizione completa del pannello e i valori assegnati sono riportati nella Tabella 3.

1.1.3 Schema IN-S

Il materiale da analizzare consisteva di siero ottenuto dopo l'immunizzazione di polli SPF tenuti in BSL3 con ceppi virali selezionati di AI o APMV mescolati in adiuvante di Freund al 12% o equivalente. In caso di campioni negativi, è stato utilizzato siero di pollo SPF non immunizzato. I campioni sono stati forniti in forma liofila e dovevano essere ricostituiti in 1 ml di acqua distillata immediatamente prima del test. Il pannello era composto da dodici (12) campioni, di cui sette (7) contenenti anticorpi contro l'influenza di tipo A, due (2) contenenti anticorpi contro APMV-1 e tre (3) campioni negativi. La composizione completa del pannello e i valori assegnati sono riportati nella Tabella 4.

1.2 Valore assegnato

Il valore assegnato coincide con il valore atteso che è stato determinato utilizzando procedure analitiche raccomandate che garantiscono l'accuratezza e la precisione dei risultati. Questi metodi sono elencati nella Tabella 5 e sono disponibili sul sito web dell'IZSve.

1.3 Controllo qualità

Il controllo qualità è stato eseguito in conformità alle norme UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010 e UNI ISO 13528:2022, utilizzando i metodi contrassegnati dal simbolo † in Tabella 5. Ciascun lotto di campioni è stato sottoposto a test di omogeneità dopo la produzione e di stabilità all'inizio e al termine dell'esercizio.

I test hanno dimostrato che tutti i campioni di questa edizione, ad eccezione del campione M02 dello schema IN-M, possedevano un naturale grado di omogeneità e avevano mantenuto un'adeguata stabilità durante il periodo dell'esercizio. Il campione M02 non ha soddisfatto i criteri rigorosi adottati dall'Organizzazione per la verifica della conformità ai requisiti di stabilità. Di conseguenza, il campione è riportato nel presente report solo a scopo informativo e non è stato considerato nella valutazione delle prestazioni dei partecipanti. Il campione è evidenziato in arancione in tutte le tabelle come promemoria del fatto che i risultati comunicati non sono stati valutati.

1.4 Distribuzione

I campioni sono stati adeguatamente imballati e spediti in condizioni tali da mantenere la stabilità del materiale in essi contenuto durante il trasporto. I campioni sono stati identificati con un codice alfanumerico e dovevano essere utilizzati solo per gli scopi del circuito.

1.5 Analisi dei campioni

I partecipanti sono stati invitati a testare i campioni utilizzando i loro metodi analitici di routine, purché conformi a quelli definiti dall'Organizzazione e ad applicare i criteri di analisi riportati nelle Tabelle 6, 7 e 8. I partecipanti sono stati inoltre informati che qualsiasi risultato aggiuntivo sarebbe stato utilizzato solo per fornire informazioni aggiuntive sulle performance dei test applicati utili ai fini dell'autovalutazione. Tali dati sono presentati sotto forma di appendice al presente report (APPENDICE I).

1.6 Comunicazione dei risultati

I risultati sono stati trasmessi attraverso il portale AQUAWEB e secondo le espressioni di risultato specificate nelle Tabelle 6, 7 e 8. Ai partecipanti è stato raccomandato di fornire anche i dati quantitativi, nonché dettagli sui protocolli utilizzati che sarebbero stati trattati solo a titolo informativo ed elaborati al solo scopo di fornire ai laboratori un feedback sulle prestazioni dei propri saggi. Per essere conformi, i risultati dovevano essere consegnati entro il termine stabilito.

1.7 Valutazione dei risultati

L'analisi statistica dei risultati qualitativi è stata eseguita in conformità alla norma UNI ISO 13528:2022 e in base al numero di risultati "corretti", ossia di risposte corrispondenti ai valori assegnati.

L'accuratezza tra i risultati e i valori assegnati è stata calcolata per laboratorio e per campione rispetto a ciascun misurando. Il valore di accuratezza è stato determinato anche per misurare le prestazioni complessive raggiunte per ogni misurando e la percentuale di campioni positivi (sensibilità) e negativi (specificità) correttamente identificati (Tabella 11, Tabella 16 e Tabella 20). I metodi applicati per lo stesso misurando sono stati considerati equivalenti per l'elaborazione statistica dei risultati se conformi a quelli stabiliti dall'Organizzazione (Tabelle 6, 7 e 8).

Inoltre, misure simili al kappa (k) sono state implementate 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 9) e dal p -value. L'accordo dovuto al caso risulta in $p \geq 0,05$, altrimenti viene assunto come vero.

I criteri basati sul K di Cohen e il relativo p -value sono stati utilizzati per la valutazione finale delle competenze analitiche dei partecipanti (Tabella 10). Per essere valutato come "Accettabile", il laboratorio avrebbe dovuto ottenere $0.90 \leq K \leq 1.00$ con $p < 0.05$. Diversamente, la valutazione sarebbe stata "Discutibile" o "Inaccettabile" in base al valore di K . Il risultato indicato come "Non testato" o non fornito è stato considerato non corretto quando non aderente ai criteri di analisi.

Tabella 2. Pannello dello schema IN-M – Descrizione e valori assegnati.

ID Campione	Ceppo	Tipo	Patotipo	Lineaggio/Clade/Genotipo	Valore assegnato			
					AIV	H5	H7	APMV-1
M01	A/pheasant/Italy/22VIR1741-97/2022	H5N2	LPAI	Eurasian	P	P	N	N
M02	A/Anas platyrhynchos/Belgium/2988_0002/2021	H7N7	LPAI	Eurasian	Riportato solo a titolo informativo			
M03	A/chicken/Niger/40-23_23VIR3551-48/2023	H5N1	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b*	P	P	N	N
M04	Negativo				N	N	N	N
M05	A/turkey/Italy/23VIR1964-19/2023	H5N1	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b*	P	P	N	N
M06	A/sea eagle/Norway/2022-07-198_22VIR3866-12/2022	H5N5	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b*	P	P	N	N
M07	APMV-1/chicken/Nigeria/HDJ-CK-7-9C_23VIR1455-5/2022	APMV-1	Virulento	XIV.2**	N	N	N	P
M08	A/teal/Italy/22VIR4622-10/2022	H9N2	LPAI	Y439	P	N	N	N
M09	PPMV-1/pigeon/Italy/22VIR12923-2/2022	APMV-1	Virulento	VI.2.1.1.2.2**	N	N	N	P
M10	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021	H7N3	LPAI	Eurasian	P	N	P	N
M11	APMV-1/chicken/Poland/H313_23VIR6501-3/2023	APMV-1	Virulento	VII.1.1**	N	N	N	P
M12	APMV-1/turtle dove/Spain/763-2/2022	APMV-1	Virulento	XX**	N	N	N	P
M13	A/common teal/Italy/20VIR7439-190/2020	H5N5	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b*	P	P	N	N

Per scopi di formattazione, le abbreviazioni sono usate come P = Positivo, N = Negativo

* Secondo la nomenclatura dei virus HPAI di tipo A (H5) usata dal Global Influenza Surveillance and Report System (GISRS) dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS)

** Secondo la nomenclatura aggiornata dei virus della malattia di Newcastle (Dimitrov et al., 2019)

In arancione è evidenziato il campione che non è stato utilizzato per la valutazione delle prestazioni dei partecipanti e che è mostrato solo a titolo informativo

Tabella 3. Pannello dello schema IN-V – Descrizione e valori assegnati.

ID Campione	Ceppo	Tipo	Patotipo	Lineaggio/Clade/Genotipo	Titolo HA [^]	Valore assegnato		
						H5	H7	APMV-1
V01	A/mallard/Italy/19VIR6649-35/2019	H6N8	LPAI		1:128	N	N	N
V02	A/duck/Italy/21VIR8691-13/2021	H9N2	LPAI	Y439	1:128	N	N	N
V03	A/duck/Italy/16VIR123/2016	H5N3	LPAI	Eurasian	1:128	P	N	N
V04	A/pheasant/Italy/22VIR1741-97/2022	H5N2	LPAI	Eurasian	1:64	P	N	N
V05	A/chicken/Italy/19VIR5895-30/2019	H7N3	LPAI	Eurasian	1:128	N	P	N
V06	Negativo					N	N	N
V07	Negativo					N	N	N
V08	A/turkey/Italy/20VIR1969-22/2020	H7N1	LPAI	Eurasian	1:256	N	P	N
V09	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	H5N1	LPAI	Eurasian	1:64	P	N	N
V10	A/turkey/Italy/21VIR9520-3/2021	H5N1	HPAI	Eurasian, 2.3.4.4b*	1:64	P	N	N
V11	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	APMV-1	Virulento	VII.2**	1:128	N	N	P
V12	PPMV-1/pigeon/Italy/22VIR12923-2/2022	APMV-1	Virulento	VI.2.1.1.2.2**	1:128	N	N	P

Per scopi di formattazione, le abbreviazioni sono usate come P = Positivo, N = Negativo

[^] Valore modale dei titoli emoagglutinanti (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

* Secondo la nomenclatura dei virus HPAI di tipo A (H5) usata dal Global Influenza Surveillance and Report System (GISRS) dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS)

** Secondo la nomenclatura aggiornata dei virus della malattia di Newcastle (Dimitrov et al., 2019)

Tabella 4. Pannello dello schema IN-S – Descrizione e valori assegnati.

ID Campione	Antigene immunizzante				Titolo HI [^]	Valore assegnato			
	Ceppo	Tipo	Patotipo	Lineaggio/ Clade/Genotipo		AIV	H5	H7	APMV-1
S01	Negativo					N	N	N	N
S02	Negativo					N	N	N	N
S03§	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022	H5N1	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b*	1:1024	P	P	N	N
S04	A/turkey/Italy/21VIR9117-15/2021	H5N1	LPAI	Eurasian	1:128	P	P	N	N
S05§	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022	H5N1	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b*	1:128	P	P	N	N
S06	A/duck/Italy/21VIR8691-13/2021	H9N2	LPAI	Y439	1:256	P	N	N	N
S07	A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019	H4N6	LPAI		1:256	P	N	N	N
S08	NDV VG/GA	APMV-1	Avirulento	I.1.1**	1:256	N	N	N	P
S09§	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021	H7N8	LPAI	Eurasian	1:128	P	N	P	N
S10	Negative					N	N	N	N
S11§	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021	H7N8	LPAI	Eurasian	1:64	P	N	P	N
S12	AOAV-1/chicken/Spain/2278-54_22VIR7253-24/2022	APMV-1	Virulento	VII.2**	1:256	N	N	N	P

Per scopi di formattazione, le abbreviazioni sono usate come P = Positivo, N = Negativo

[^] Valore modale dei titoli anticorpali ottenuti durante i test HI di valutazione della qualità dei campioni e individuato come la più alta diluizione di siero che provoca la completa inibizione dell'attività emoagglutinante dell'antigene omologo

* Secondo la nomenclatura dei virus HPAI di tipo A (H5) usata dal Global Influenza Surveillance and Report System (GISRS) dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS)

** Secondo la nomenclatura aggiornata dei virus della malattia di Newcastle (Dimitrov et al., 2019)

§ Le coppie di campioni S03 e S05 e S09 e S11 sono costituite da diluizione diverse dello stesso siero

Tabella 5. Metodi usati per assegnare i valori target ai campioni e la conformità alle prove di omogeneità e stabilità (identificati dal simbolo †).

Schema	Misurando	Metodo [^]
AQUA IN-M	Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)	PDP VIR 018†
	Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5	PDP VIR 143, PDP VIR 125
	Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7	PDP VIR 144, PDP VIR 126
	Paramyxovirus aviario di tipo 1	PDP VIR 151†, PDP VIR 1002
AQUA IN-V	Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H5	PDP VIR 005†
	Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H7	PDP VIR 005†
	Paramyxovirus aviario di tipo 1	PDP VIR 007†
AQUA IN-S	Anticorpi contro il virus dell'influenza aviaria di tipo A	PDP IMM 063†, PDP IMM 116†
	Anticorpi contro il sottotipo H5 del virus dell'influenza aviaria	PDP IMM 064†
	Anticorpi contro il sottotipo H7 del virus dell'influenza aviaria	PDP IMM 064†
	Anticorpi contro il paramyxovirus aviario di tipo 1	PDP IMM 065†

[^] PDP di riferimento per influenza aviaria e malattia di Newcastle pubblicate sul sito IZSVe del Centro di Referenza al seguente indirizzo <https://www.izsvenezie.it/temi/malattie-patogeni/influenzaaviaria/procedure-prova/>

† Metodo applicato per la verifica del grado di omogeneità e stabilità dei campioni, nonché del valore assegnato

Tabella 6. Misurandi, metodi, espressioni di risultato e criteri di analisi dello schema IN-M.

Misurando	Metodo	Espressione di risultato	Criterio di analisi [^]
Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)	Real-time e/o RT-PCR convenzionale	Positivo o Negativo o Non testato	13 su 13 campioni
Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5	Real-time e/o RT-PCR convenzionale	Positivo o Negativo o Non testato	13 su 13 campioni**
Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7	Real-time e/o RT-PCR convenzionale	Positivo o Negativo o Non testato	13 su 13 campioni**
Paramyxovirus aviario di tipo 1	Real-time e/o RT-PCR convenzionale	Positivo o Negativo o Non testato	13 su 13 campioni

[^] Numero di campioni correttamente determinati per ricevere 100% di risultati corretti

** Per qualsiasi campione risultato negativo al test di screening per AIV (gene M/NP), il risultato indicato come "Non testato" o non fornito è accettato e trattato come corretto

Tabella 7. Misurandi, metodi, espressioni di risultato e criteri di analisi dello schema IN-V.

Misurando	Metodo	Espressione di risultato	Criterio di analisi [^]
Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H5	Test di emoagglutinazione (HA) e inibizione dell'emoagglutinazione (HI)	Positivo o Negativo o Non testato	12 su 12 campioni
Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H7	Test di emoagglutinazione (HA) e inibizione dell'emoagglutinazione (HI)	Positivo o Negativo o Non testato	12 su 12 campioni
Paramyxovirus aviario di tipo 1	Test di emoagglutinazione (HA) e inibizione dell'emoagglutinazione (HI)	Positivo o Negativo o Non testato	12 su 12 campioni

[^] Numero di campioni correttamente determinati per ricevere 100% di risultati corretti

Tabella 8. Misurandi, metodi, espressioni di risultato e criteri di analisi dello schema IN-S.

Misurando	Metodo	Espressione di risultato	Criterio di analisi [^]
Anticorpi contro il virus dell'influenza aviaria di tipo A	ELISA e/o AGID	Positivo o Negativo o Non testato	12 su 12 campioni
Anticorpi contro il sottotipo H5 del virus dell'influenza aviaria	Test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI)	Positivo o Negativo o Non testato	12 su 12 campioni
Anticorpi contro il sottotipo H7 del virus dell'influenza aviaria	Test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI)	Positivo o Negativo o Non testato	12 su 12 campioni
Anticorpi contro il paramyxovirus aviario di tipo 1	Test d'inibizione dell'emoagglutinazione (HI)	Positivo o Negativo o Non testato	12 su 12 campioni

[^] Numero di campioni correttamente determinati per ricevere 100% di risultati corretti

Tabella 9. Scala di Landis & Koch.

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 10. Criteri per la valutazione delle performance.

Valutazione	Interpretazione
Accettabile ($0.90 \leq K \leq 1.00$; $p < 0.05$)	Accordo perfetto o quasi perfetto con i valori assegnati.
Discutibile ($0.60 \leq K \leq 0.89$; $p < 0.05$)	L'accordo è considerato affidabile – Accordo parziale con i valori assegnati. Il campione erroneamente identificato dovrebbe essere ritestato con risultati accettabili. Eccezione. Nessuna incongruenza con i valori target ma accordo parziale con il numero di risultati attesi. Le azioni successive devono essere determinate in accordo al sistema qualità del laboratorio o le disposizioni dell'ente di accreditamento.
Non accettabile ($K \leq 0.59$ or $p \geq 0.05$)	Scarso accordo o accordo dovuto al caso – Il campione identificato in modo errato dovrebbe essere ritestato ed è raccomandata la revisione del metodo e della procedura impiegati. Eccezione. Nessuna incongruenza con i valori target ma accordo parziale con il numero di risultati attesi. Le azioni successive devono essere determinate in accordo al sistema qualità del laboratorio o le disposizioni dell'ente di accreditamento.

2. Risultati

2.1 Schema AQUA IN-M

I risultati per lo schema IN-M sono stati presentati da diciannove (19) laboratori, e più precisamente da sedici (16) II.ZZ.SS. e tre (3) laboratori privati.

La Tabella 11 riassume le prestazioni complessive differenziate per misurando, mentre i risultati dei singoli laboratori e i relativi punteggi sono riportati nelle Tabelle da 12 a 15. Dati informativi e/o risultati aggiuntivi sono riportati nell'APPENDICE I.

Tabella 11. Analisi delle performance complessive per lo schema IN-M.

Misurando	No.*	Accuratezza (%)	k	p-value	Se (%)	Sp (%)
Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)	19	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5	13	98,72	0,95	0,00	96,92	100,00
Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7	13	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Paramyxovirus aviario di tipo 1	13	99,36	0,97	0,00	98,08	100,00

Se = Sensibilità; Sp = Specificità

* Numero di laboratori che hanno rispettato i criteri di analisi dei campioni

Tabella 12 Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000469	L000503	
M01	H5N2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M02	H7N7	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
M03	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M04	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M05	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M06	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M07	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M08	H9N2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M09	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M10	H7N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M11	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M12	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M13	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	100,00	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	1,00	1,00	1,00	
p-value		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

Tabella 12 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000526	L000527	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	L000586	L000685	
M01	H5N2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M02	H7N7	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
M03	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M04	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M05	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M06	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M07	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M08	H9N2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M09	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M10	H7N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M11	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M12	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M13	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	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	1,00	1,00	
p-value		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo
 In nero: risultato corretto; in **rosso**: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi
 In arancione è evidenziato il campione che non è stato utilizzato per la valutazione delle prestazioni dei partecipanti e che è mostrato solo a titolo informativo
 Complessivamente, il pannello comprendeva sette (7) AIV positivi e cinque (5) AIV negativi

Tabella 13. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000469	L000503	
M01	H5N2	P	NT	NT	NT	P	NT	P	P	P	NT	100,00
M02	H7N7	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	
M03	H5N1	P	NT	NT	NT	P	NT	P	P	P	NT	100,00
M04*	Negativo	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M05	H5N1	P	NT	NT	NT	P	NT	P	P	P	NT	84,62
M06	H5N5	P	NT	NT	NT	P	NT	P	P	P	NT	100,00
M07*	APMV-1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M08	H9N2	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M09*	APMV-1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M10	H7N3	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M11*	APMV-1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M12*	APMV-1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M13	H5N5	P	NT	NT	NT	P	NT	P	P	P	NT	100,00
Accuratezza (%)		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		

Tabella 13 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000526	L000527	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	L000586	L000685	
M01	H5N2	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M02	H7N7	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	
M03	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M04*	Negativo	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M05	H5N1	P	P	N	N	P	P	P	NT	P	84,62
M06	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M07*	APMV-1	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M08	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M09*	APMV-1	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M10	H7N3	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M11*	APMV-1	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M12*	APMV-1	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M13	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	91,67	91,67	100,00	100,00	100,00		100,00	
Kappa		1,00	1,00	0,82	0,82	1,00	1,00	1,00		1,00	
p-value		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo, NT = Non testato
In nero: risultato corretto; in rosso: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi
In arancione è evidenziato il campione che non è stato utilizzato per la valutazione delle prestazioni dei partecipanti e che è mostrato solo a titolo informativo

* Il risultato "Non testato" o non fornito è accettato e trattato come "Negativo" per la valutazione dei risultati

Complessivamente, il pannello comprendeva cinque (5) AIV-H5Nx positivi e sette (7) AIV-H5Nx negativi

IZSVe – Centro di Referenza Nazionale per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle
Report definitivo emesso il 19/07/2024

Tabella 14. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000469	L000503	
M01	H5N2	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M02	H7N7	N	NT	NT	NT	P	NT	P	P	N	NT	
M03	H5N1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M04*	Negativo	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M05	H5N1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M06	H5N5	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M07*	APMV-1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M08	H9N2	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M09*	APMV-1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M10	H7N3	P	NT	NT	NT	P	NT	P	P	P	NT	100,00
M11*	APMV-1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M12*	APMV-1	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
M13	H5N5	N	NT	NT	NT	N	NT	N	N	N	NT	100,00
Accuratezza (%)		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		

Tabella 14 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000526	L000527	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	L000586	L000685	
M01	H5N2	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M02	H7N7	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	
M03	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M04*	Negativo	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M05	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M06	H5N5	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M07*	APMV-1	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M08	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M09*	APMV-1	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M10	H7N3	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M11*	APMV-1	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M12*	APMV-1	N	N	N	NT	N	N	N	NT	N	100,00
M13	H5N5	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	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		1,00	
p-value		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo, NT = Non testato
In nero: risultato corretto; in rosso: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi
In arancione è evidenziato il campione che non è stato utilizzato per la valutazione delle prestazioni dei partecipanti e che è mostrato solo a titolo informativo

* Il risultato "Non testato" o non fornito è accettato e trattato come "Negativo" per la valutazione dei risultati
Complessivamente, il pannello comprendeva un AIV-H7Nx positivo e undici (11) AIV-H7Nx negativi

Tabella 15. Risultati per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000469	L000503	
M01	H5N2	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	100,00
M02	H7N7	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	
M03	H5N1	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	100,00
M04*	Negativo	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	100,00
M05	H5N1	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	100,00
M06	H5N5	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	100,00
M07*	APMV-1	NT	NT	NT	NT	P	P	P	P	P	NT	100,00
M08	H9N2	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	100,00
M09*	APMV-1	NT	NT	NT	NT	P	P	P	P	P	NT	100,00
M10	H7N3	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	100,00
M11*	APMV-1	NT	NT	NT	NT	P	P	P	P	P	NT	100,00
M12*	APMV-1	NT	NT	NT	NT	P	P	P	P	P	NT	92,31
M13	H5N5	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	N	NT	100,00
Accuratezza (%)						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		

Tabella 15 (continuazione). Risultati per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000526	L000527	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	L000586	L000685	
M01	H5N2	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M02	H7N7	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	
M03	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M04*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M05	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M06	H5N5	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M07*	APMV-1	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M08	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M09*	APMV-1	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M10	H7N3	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M11*	APMV-1	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M12*	APMV-1	P	N	P	P	P	P	P	NT	P	92,31
M13	H5N5	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	91,67	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00		100,00	
Kappa		1,00	0,80	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		0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo, NT = Non testato
In nero: risultato corretto; in rosso: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi
In arancione è evidenziato il campione che non è stato utilizzato per la valutazione delle prestazioni dei partecipanti e che è mostrato solo a titolo informativo

* Il risultato "Non testato" o non fornito è accettato e trattato come "Negativo" per la valutazione dei risultati
Complessivamente, il pannello comprendeva quattro (4) APMV-1 positivi e otto (8) APMV-1 negativi

2.2 Schema AQUA IN-V

I risultati per lo schema IN-V sono stati presentati da nove (9) laboratori appartenenti agli II.ZZ.SS..

La Tabella 16 riassume le prestazioni complessive differenziate per misurando, mentre i risultati dei singoli laboratori e i relativi punteggi sono riportati nelle Tabelle da 17 a 19. Dati informativi e risultati aggiuntivi sono riportati nell'APPENDICE I.

Tabella 16. Analisi delle performance complessive per lo schema IN-V

Misurando	No.*	Accuratezza (%)	k	p-value	Se (%)	Sp (%)
Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H5	9	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H7	9	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Paramyxovirus aviario di tipo 1	9	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00

Se = Sensibilità; Sp = Specificità

* Numero di laboratori che hanno rispettato i criteri di analisi dei campioni

Tabella 17. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H5'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	
V01	H6N8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V02	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V03	H5N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V04	H5N2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V05	H7N3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V06	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V07	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V08	H7N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V09	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V10	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V11	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V12	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	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	1,00	1,00	
p-value		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo
In nero: risultato corretto; in **rosso**: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi
Complessivamente, il pannello comprendeva quattro (4) AIV-H5Nx positivi e otto (8) AIV-H5Nx negativi

Tabella 18. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H7'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	
V01	H6N8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V02	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V03	H5N3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V04	H5N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V05	H7N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V06	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V07	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V08	H7N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V09	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V10	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V11	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V12	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	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	1,00	1,00	
p-value		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo

In nero: risultato corretto; in **rosso**: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi

Complessivamente, il pannello comprendeva due (2) AIV-H7Nx positivi e dieci (10) AIV-H7Nx negativi

Tabella 19. Risultati per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	
V01	H6N8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V02	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V03	H5N3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V04	H5N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V05	H7N3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V06	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V07	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V08	H7N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V09	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V10	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V11	APMV-1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V12	APMV-1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	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	1,00	1,00	
p-value		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo

In nero: risultato corretto; in rosso: risultato diverso dal valore assegnato

Complessivamente, il pannello comprendeva due (2) APMV-1 positivi e dieci (10) APMV-1 negativi

2.3 Schema AQUA IN-S

I risultati per lo schema IN-S sono stati presentati da dodici (12) laboratori appartenenti agli II.ZZ.SS..

La Tabella 20 riassume le prestazioni complessive differenziate per misurando, mentre i risultati dei singoli laboratori e i relativi punteggi sono riportati nelle Tabelle da 21 a 24. Dati informativi e risultati aggiuntivi sono riportati nell'APPENDICE I.

Tabella 20. Analisi delle performance complessive per lo schema IN-S.

Misurando	No.*	Accuratezza (%)	k	p-value	Se (%)	Sp (%)
Anticorpi contro il virus dell'influenza aviaria di tipo A	12	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Anticorpi contro il sottotipo H5 del virus dell'influenza aviaria	12	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Anticorpi contro il sottotipo H7 del virus dell'influenza aviaria	12	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Anticorpi contro il paramyxovirus aviario di tipo 1	10	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00

Se = Sensibilità; Sp = Specificità

* Numero di laboratori che hanno rispettato i criteri di analisi dei campioni

Tabella 21. Risultati per il misurando 'Anticorpi contro i virus dell'influenza aviaria di tipo A'.

Campione		Codice Laboratorio												Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	L000550	L000551	L000685	
S01	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S02	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S03§	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S04	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S05§	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S06	H9N2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S07	H4N6	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S08	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S09§	H7N8	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S10	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S11§	H7N8	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S12	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	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	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	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo

In nero: risultato corretto; in **rosso**: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi

§ Le coppie di campioni S03 e S05 e S09 e S11 sono costituite da siero prodotto a partire rispettivamente dagli antigeni immunogeni A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 e A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 e preparato a diverse diluizioni

Complessivamente, il pannello comprendeva sette (7) campioni positivi agli anticorpi AIV e cinque (5) negativi

Tabella 22. Risultati per il misurando 'Anticorpi contro il sottotipo H5 dei virus dell'influenza aviaria'.

Campione		Codice Laboratorio												Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	L000550	L000551	L000685	
S01	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S02	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S03§	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S04	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S05§	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S06	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S07	H4N6	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S08	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S09§	H7N8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S10	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S11§	H7N8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S12	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	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	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	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo

In nero: risultato corretto; in **rosso**: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi

§ Le coppie di campioni S03 e S05 e S09 e S11 sono costituite da siero prodotto a partire rispettivamente dagli antigeni immunogeni A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 e A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 e preparato a diverse diluizioni

Complessivamente, il pannello comprendeva tre (3) campioni positivi agli anticorpi AIV-H5 e nove (9) negativi

Tabella 23. Risultati per il misurando 'Anticorpi contro il sottotipo H7 dei virus dell'influenza aviaria'.

Campione		Codice Laboratorio												Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	L000550	L000551	L000685	
S01	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S02	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S03§	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S04	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S05§	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S06	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S07	H4N6	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S08	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S09§	H7N8	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S10	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S11§	H7N8	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S12	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	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	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	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo

In nero: risultato corretto; in **rosso**: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi

§ Le coppie di campioni S03 e S05 e S09 e S11 sono costituite da siero prodotto a partire rispettivamente dagli antigeni immunogeni A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 e A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 e preparato a diverse diluizioni

Complessivamente, il pannello comprendeva due (2) campioni positivi agli anticorpi AIV-H7 e dieci (10) negativi

Tabella 24. Risultati per il misurando 'Anticorpi contro i paramyxovirus aviari di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio												Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000545	L000546	L000548	L000549	L000550	L000551	L000685	
S01	Negativo	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S02	Negativo	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S03§	H5N1	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S04	H5N1	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S05§	H5N1	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S06	H9N2	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S07	H4N6	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S08	APMV-1	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
S09§	H7N8	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S10	Negativo	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S11§	H7N8	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
S12	APMV-1	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
Accuratezza (%)			100,00	100,00	100,00	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	1,00	1,00		1,00	
p-value			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	

I dati sono fedelmente riportati come presentati. Per motivi di formattazione, le abbreviazioni sono utilizzate come P = Positivo, N = Negativo, NT = Non testato
 In nero: risultato corretto; in **rosso**: risultato diverso dal valore assegnato, compreso quello indicato come "Non testato" o non fornito non conforme ai criteri di analisi
 § Le coppie di campioni S03 e S05 e S09 e S11 sono costituite da siero prodotto a partire rispettivamente dagli antigeni immunogeni A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022 e A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021 e preparato a diverse diluizioni
 Complessivamente, il pannello comprendeva due (2) campioni positivi agli anticorpi APMV-1 e dieci (10) negativi

3. Discussioni

Ciascun laboratorio è stato valutato secondo criteri basati sul k di Cohen e sul valore p associato (Tabella 10), che riflettono il grado di accordo con i valori assegnati (Tabella 2, Tabella 3 e Tabella 4).

La valutazione attribuita alle prestazioni di ciascun partecipante è riportata nelle Tabelle 25, 26 e 27, rispettivamente per gli schemi IN-M, IN-V e IN-S.

3.1 Schema AQUA IN-M

Lo schema è stato eseguito con un tasso di successo del 99,57% e complessivamente, dei diciannove (19) laboratori che vi hanno partecipato, sedici (16) sono stati valutati come accettabili per tutti i misurandi e tre (3) hanno ricevuto una valutazione discutibile ciascuno per uno dei quattro misurandi valutati. Nello specifico, i laboratori L000544 e L000545 hanno mancato il riconoscimento del campione M05 (H5N1), assegnato come negativo per H5. La ragione all'origine di questi due risultati falsi negativi è probabilmente da ricondurre alla concentrazione dell'RNA target nel campione che ha impedito l'identificazione di M05 con il metodo usato da entrambi i laboratori. In effetti, la mediana e la media calcolate sui dati dei Ct rispettivamente dei partecipanti e dell'Organizzazione hanno evidenziato che, tra i cinque campioni del pannello contenenti virus di sottotipo H5, M05 possedeva la carica virale più bassa (APPENDICE I). Allo scopo di verificare se il fallimento sia da attribuire ad una sub ottimale performance del metodo in termini di sensibilità piuttosto che ad un errore procedurale, i laboratori L000544 e L000545 sono incoraggiati a testare nuovamente il campione e comunicare gli esiti al CRN. Qualora vengano ottenuti simili risultati, si raccomanda ai laboratori di considerare la revisione o la sostituzione del metodo impiegato per la diagnosi di H5.

Il rimanente risultato errato è stato trasmesso da L000527 che ha considerato negativo per APMV-1 il campione M12. Pertanto, per il determinato misurando è stata ottenuta un'accuratezza del 99,36% con i valori assegnati (Tabella 11). Al fine di comprendere la ragione di tale errore si consiglia di ritestare il campione e di informare l'Organizzazione dei risultati ottenuti.

Ad eccezione dei due falsi negativi attribuiti al campione non valutabile M02 (H7N7), tutti gli esiti riportati per i misurandi AIV (gene M/NP) e il sottotipo H7 sono stati 100% congruenti con quelli attesi.

3.2 Schema AQUA IN-V

I nove (9) laboratori che hanno partecipato allo schema IN-V hanno dimostrato un eccellente livello di competenza nell'esecuzione dell'esercizio, raggiungendo una percentuale di successo del 100%. Tutti i dodici campioni del pannello sono stati correttamente categorizzati rispetto a tutti i misurandi. Comunque, dall'osservazione dei dati opzionali presentati, si nota che un partecipante ha restituito un titolo in HA pari a 1:32 per il campione V06, che in realtà non conteneva alcun virus target ma solo matrice negativa (Tabella S6, APPENDICE I). Difatti, il laboratorio ha ipotizzato che si trattasse di un campione contenente un virus emoagglutinante non H5, H7 o APMV-1 (dato non mostrato).

3.3 Schema AQUA IN-S

I dodici (12) laboratori che hanno partecipato allo schema IN-S hanno dimostrato un eccellente livello di competenza nell'esecuzione dell'esercizio, raggiungendo una percentuale di successo del 100%. Tutti i dodici campioni del pannello sono stati correttamente categorizzati rispetto a tutti i misurandi.

Tabella 25. Valutazione assegnata per lo schema IN-M.

Codice laboratorio	Misurando			
	AIV (gene M/NP)	AIV-H5	AIV-H7	APMV-1
L000342	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Non eseguito
L000356	Accettabile	Non eseguito	Non eseguito	Non eseguito
L000358	Accettabile	Non eseguito	Non eseguito	Non eseguito
L000390	Accettabile	Non eseguito	Non eseguito	Non eseguito
L000399	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000411	Accettabile	Non eseguito	Non eseguito	Accettabile
L000438	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000452	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000469	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000503	Accettabile	Non eseguito	Non eseguito	Non eseguito
L000526	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000527	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Discutibile
L000544	Accettabile	Discutibile	Accettabile	Accettabile
L000545	Accettabile	Discutibile	Accettabile	Accettabile
L000546	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000548	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000549	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000586	Accettabile	Non eseguito	Non eseguito	Non eseguito
L000685	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile

Per l'interpretazione della valutazione, si rimanda alla Tabella 10

Tabella 26. Valutazione assegnata per lo schema IN-V.

Codice laboratorio	Misurando		
	AIV-H5	AIV-H7	APMV-1
L000399	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000438	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000469	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000526	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000544	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000545	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000546	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000548	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000549	Accettabile	Accettabile	Accettabile

Per l'interpretazione della valutazione, si rimanda alla Tabella 10

Tabella 27. Valutazione assegnata per lo schema IN-S.

Codice laboratorio	Misurando			
	AIV (Abs)	AIV-H5 (Abs)	AIV-H7 (Abs)	APMV-1 (Abs)
L000342	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Non eseguito
L000399	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000438	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000526	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000544	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000545	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000546	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000548	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000549	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000550	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile

Tabella 27 (continuazione). Valutazione assegnata per lo schema IN-S

Codice laboratorio	Misurando			
	AIV (Abs)	AIV-H5 (Abs)	AIV-H7 (Abs)	APMV-1 (Abs)
L000551	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Non eseguito
L000685	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile

Per l'interpretazione della valutazione, si rimanda alla Tabella 10
Abs = Anticorpi

4. Conclusioni

Il Circuito Interlaboratorio AQUA IN organizzato dal CRN per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle nell'edizione del 2024 ha visto la partecipazione di ventuno (21) laboratori nazionali (Tabella 1). 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 che non richiedono significativi interventi correttivi.

In ogni caso, ogni laboratorio partecipante è sempre invitato a non sottovalutare l'importanza di ciascun risultato discordante e a non trascurare le ragioni che hanno portato a conclusioni incongruenti. I laboratori sono altresì raccomandati di verificare se le procedure e i metodi impiegati hanno restituito valori che si discostano significativamente dai valori medi stimati sulla base dei dati dei partecipanti e dell'Organizzazione. Se da questa analisi risultassero dei disallineamenti importanti e sistematici con il dato atteso, i partecipanti sono fortemente incoraggiati alla revisione dei metodi allo scopo di migliorarne le performance.

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 o discrepanze, 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.

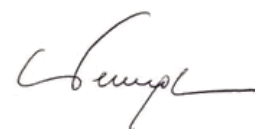
5. Informativa sulla privacy

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 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
19/07/2024

Dr. Calogero Terregino
Responsabile circuito interlaboratorio AQUA IN

6. Bibliografia

Dimitrov KM, Abolnik C, Afonso CL, Albina E, Bahl J et al. 2019. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. Infect Genet Evol. 74:103917.doi: 10.1016/j.meegid.2019.103917.

Heine HG, Foord AJ, Wang J, et al. 2015. Detection of highly pathogenic zoonotic influenza virus H5N6 by reverse-transcriptase quantitative polymerase chain reaction. Virol J. 12:18. doi:10.1186/s12985-015-0250-3.

Hassan KE, Ahrens AK, Ali A, El-Kady MF, Hafez HM, Mettenleiter TC, Beer M, Harder T. 2022. Improved Subtyping of Avian Influenza Viruses Using an RT-qPCR-Based Low Density Array: 'Riems Influenza a Typing Array', Version 2 (RITA-2). Viruses 14(2):415. <https://doi.org/10.3390/v14020415>.

UNI ISO 13528:2022 Metodi statistici utilizzati nelle prove valutative mediante confronti interlaboratorio.

UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010 Valutazione della conformità - Requisiti generali per le prove valutative interlaboratorio.

Kant A, Koch G, Van Roozelaar DJ, Balk F, Ter Huurne A. 1997. Differentiation of virulent and non-virulent strains of Newcastle disease virus within 24 hours by polymerase chain reaction. Avian Pathol. 26:4, 837-849. doi: 10.1080/03079459708419257.

Slomka MJ, Pavlidis T, Coward VJ, Voermans J, Koch G, Hanna A, Banks J and Brown IH. 2009. Validated RealTime reverse transcriptase PCR methods for the diagnosis and pathotyping of Eurasian H7 avian influenza viruses. Influenza and Other Respiratory Viruses 3:151-164.

Slomka MJ, Pavlidis T, Banks J, Shell W, McNally A, Essen S, Brown IH. 2007. Validated H5 Eurasian Real-Time Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction and Its Application in H5N1 Outbreaks in 2005–2006. Avian Dis. 51(1):373-377.

Sutton DA, Allen DP, Fuller CM, Mayers J, Mollett BC, Löndt BZ, Reid SM, Mansfield KL, Brown IH. 2019. Development of an avian avulavirus 1 (AAV-1) L-gene real-time RT-PCR assay using minor groove binding probes for application as a routine diagnostic tool. J Virol Methods 265:9-14.

Van Borm S, Suarez DL, Boschmans M, Ozhelvaci O, Marché S, van den Berg TP. 2010. Rapid detection of Eurasian and American H7 subtype influenza A viruses using a single TaqManMGB real-time RT-PCR. Avian Dis. 54(1 Suppl):632-8.

CIRCUITO AQUA IN VIROLOGIA, SIEROLOGIA E BIOLOGIA MOLECOLARE PER L'INFLUENZA AVIARIA E LA MALATTIA DI NEWCASTLE

APPENDICE I*

Schema AQUA IN-M	39
Schema AQUA IN-V	42
Schema AQUA IN-S	44

* I risultati e i dati riportati nella presente appendice non sono oggetto di accreditamento ACCREDIA. Sono raccolti ed elaborati esclusivamente a scopo informativo e per l'autovalutazione da parte dei partecipanti. In alcuni casi, possono aiutare a interpretare i risultati.

Informazioni sui campioni

Il campione M02 è evidenziato in arancione in tutte le tabelle come promemoria del fatto che i risultati presentati non sono stati utilizzati per la valutazione delle prestazioni dei partecipanti.

Schema AQUA IN-M

Tabella S1. Sintesi dei valori di Ct per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)'.

Campione		No.*	Mediana	Min	Max	nIQR	rCV	CRN (9)
ID	Tipo							
M01	H5N2	18	27,28	25,50	31,80	1,31	4,79%	26,24
M02	H7N7	18	32,15	28,37	36,18	2,52	7,85%	29,98
M03	H5N1	18	30,66	27,90	36,40	1,53	4,98%	29,83
M04	Negativo							
M05	H5N1	18	34,05	32,06	37,26	0,96	2,81%	33,67
M06	H5N5	18	27,47	25,73	31,79	0,85	3,08%	27,09
M07	APMV-1							
M08	H9N2	18	34,70	32,39	36,26	0,94	2,72%	33,86
M09	APMV-1							
M10	H7N3	18	29,15	26,59	33,56	1,05	3,59%	28,39
M11	APMV-1							
M12	APMV-1							
M13	H5N5	18	26,83	24,99	30,31	0,78	2,90%	26,53

nIQR = Range interquartile normalizzato, rCV = Coefficiente di variazione robusto

() Metodo di riferimento:

(9) IZSve PDP VIR 018, rev. 08 (Heine et al., 2015)

* Numero di risultati dati come positivi e associati ad un valore di Ct

Tabella S2. Sintesi dei valori di Ct per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5'.

Campione		No.*	Mediana	Min	Max	nIQR	rCV	CRN	
ID	Tipo							(20)	(33)
M01	H5N2	11	29,00	26,20	38,00	0,89	3,08%	25,98	31,15
M02	H7N7								
M03	H5N1	11	32,46	29,80	37,58	2,55	7,86%	30,27	28,45
M04	Negativo								
M05	H5N1	9	34,70	31,60	36,21	0,47	1,37%	32,31	32,30
M06	H5N5	11	29,20	27,70	38,70	0,67	2,31%	26,99	27,45
M07	APMV-1								
M08	H9N2								
M09	APMV-1								
M10	H7N3								
M11	APMV-1								
M12	APMV-1								
M13	H5N5	11	28,00	25,40	36,65	0,63	2,24%	25,47	26,13

nIQR = Range interquartile normalizzato, rCV = Coefficiente di variazione robusto

() Metodo di riferimento:

(20) IZSve PDP VIR 143, rev. 03 (Slomka et al., 2007)

(33) IZSve SOP 1004, ed. 02 (Hassan et al., 2022)

* Numero di risultati dati come positivi e associati ad un valore di Ct

Tabella S3. Sintesi dei valori di Ct per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7'.

Campione		No.*	Mediana	Min	Max	nIQR	rCV	CRN		
ID	Tipo							(33)	(22)	(18)
M01	H5N2									
M02	H7N7	6	34,95	32,80	39,23	2,04	5,83%	29,53	35,99	N
M03	H5N1									
M04	Negativo									
M05	H5N1									
M06	H5N5									
M07	APMV-1									
M08	H9N2									
M09	APMV-1									
M10	H7N3	11	31,00	28,20	36,68	3,24	10,46%	29,03	30,96	33,05
M11	APMV-1									
M12	APMV-1									
M13	H5N5									

N = Negativo, nIQR = Range interquartile normalizzato, rCV = Coefficiente di variazione robusto

() Metodo di riferimento:

(18) IZSVe PDP VIR 144, rev. 03 (Slomka et al., 2009)

(22) IZSVe SOP VIR 1001, ed. 00 (Van Borm et al., 2010)

(33) IZSVe SOP 1004, ed. 02 (Hassan et al., 2022)

* Numero di risultati dati come positivi e associati ad un valore di Ct

Tabella S4. Sintesi dei valori di Ct per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		No.*	Mediana	Min	Max	nIQR	rCV	CRN
ID	Tipo							(14)
M01	H5N2							
M02	H7N7							
M03	H5N1							
M04	Negativo							
M05	H5N1							
M06	H5N5							
M07	APMV-1	12	31,57	27,83	37,95	3,21	10,16%	23,39
M08	H9N2							
M09	APMV-1	12	33,39	31,40	35,00	1,39	4,15%	28,26
M10	H7N3							
M11	APMV-1	12	28,18	24,08	31,49	1,72	6,12%	22,15
M12	APMV-1	12	32,73	29,30	34,10	0,93	2,83%	27,07
M13	H5N5							

nIQR = Range interquartile normalizzato, rCV = Coefficiente di variazione robusto

() Metodo di riferimento:

(14) IZSVe PDP VIR 151, rev. 03 (Sutton et al., 2019)

* Numero di risultati dati come positivi e associati ad un valore di Ct

Tabella S5. Risultati da test aggiuntivi e commenti.

ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000452	L000469	L000544
M02	H7N7	AIV. In routine il campione sarebbe inviato al CR per sequenziamento	AIV H7, PCR End Point				
M05	H5N1						AIV non H5, H7, H9
M08	H9N2	AIV H9, Ct: 33,62	AIV H9	AIV H9	AIV H9, Ct 34	AIV H9	AIV H9

ID	Tipo	L000545	L000546	L000548	L000549	L000685
M02	H7N7		AIV H7. Positivo mediante RT-PCR, Negativo mediante Real Time RT-PCR	AIV H7. Rilevato solo con end point RT-PCR		
M05	H5N1	AIV non H5, H7, H9				
M08	H9N2	AIV H9, Ct 37,57 metodica Monne et al, 2008		AIV H9	AIV H9	AIV H9

Schema AQUA IN-V

Tabella S6. Moda dei titoli HA.

Campione		No.*	Titolo HA	
ID	Tipo		Partecipanti	CRN
V01	H6N8	9	1:128	1:128
V02	H9N2	9	1:128	1:128
V03	H5N3	9	1:128/1:256	1:128
V04	H5N2	9	1:128	1:64
V05	H7N3	9	1:256	1:128
V06	Negativo	1	1:32	
V07	Negativo	0		
V08	H7N1	9	1:256	1:256
V09	H5N1	9	1:64	1:64
V10	H5N1	9	1:128	1:64
V11	APMV-1	9	1:256	1:128
V12	APMV-1	9	1:256	1:128

* Numero di laboratori che hanno fornito il valore del titolo HA

Tabella S7. Risultati da test aggiuntivi.

ID	Tipo	L000399	L000544	L000545	L000548
V01	H6N8		EAV non H5, H7, H9, NDV	Emoagglutinante non H5, H7, H9	AIV H6
V02	H9N2	AIV H9	AIV H9	AIV H9	AIV H9

Tabella S8. Risultati dei test HI eseguiti dall'Organizzazione.

				CAMPIONE											
				V01	V02	V03	V04	V05	V06	V07	V08	V09	V10	V11	V12
SIERO				H6N8	H9N2	H5N3	H5N2	H7N3	N	N	H7N1	H5N1	H5N1	APMV 1	APMV 1
Antigene immunogeno	Tipo*	Patotipo*	Titolo^	LPAI	LPAI	LPAI	LPAI	LPAI	-	-	LPAI	LPAI	HPAI	Vir	Vir
A/chicken/Scotland/1/59	H5N1	HPAI	1:512	1:4	N	1:1024	1:1024	N			1:16	1:512	1:128	N	N
A/teal/England/7394-2805/06	H5N3	LPAI	1:512	N	N	1:1024	1:1024	1:8			1:2	1:512	1:32	N	N
A/wigeon/Italy/16VIR9616-3/2016	H5N5	HPAI	1:512	N											
A/mute swan/England/AVP-18-1986/17	H5N6	HPAI	1:512	1:8											
A/turkey/Italy/7898/2014	H5N8	HPAI	1:256	1:8											
A/turkey/Italy/4776-60/2015	H6N8	LPAI	1:1024	1:32											
A/turkey/Canada/65	H6N2	LPAI	1:512	1:128											
A/African starling/England/983/79	H7N1	LPAI	1:512	N	N	N	N	1:1024			1:1024	N	N	N	N
A/turkey/England/647/77	H7N7	LPAI	1:512	N	N	N	N	1:2048			1:1024	N	N	N	N
A/mallard/Italy/3817-34/05	H9N2	LPAI	1:512	N	1:512	N	N	N			N	N	N	N	N
APMV-1 Ulster 2C	APMV1	Avirulento	1:1024	N	N	N	N	N			N	N	N	1:2048	1:512
APMV-1/dove/Italy/4400/2000	APMV1	Virulento	1:256	N	N	N	N	N			N	N	N	1:128	1:256

N = Negativo

* Tipo e patotipo dell'antigene usato come immunogeno

^ Titolo anticorpale determinato come la più alta diluizione di siero che causa la completa inibizione dell'attività emoagglutinante di 4 unità di antigene omologo

Schema AQUA IN-S

Tabella S9. Kit Elisa usati.

Codice Laboratorio	Kit
CRN	ID.Vet - ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-Species
L000342	KIT IDVet lotto N94
L000399	ID,vet
L000438	ID SCREEN INFLUENZA A ANTIBODY COMPETITION MULTI-SPECIES ID,VET
L000526	Influenza A Virus Antibody Test kit - IDEXX
L000544	IDScreen Influenza A antibody competition multi-species ID,Vet lotto L02 exp, 10/24
L000545	IDScreenInfluenza A antibody competition multi - species
L000546	KIT in house
L000548	Elisa competitiva
L000549	ID Screen Influenza A Antibody Competition Multi-species
L000550	ID SCREEN INFLUENZA A ANTIBODY COMPETITION
L000551	KIT ELISA INGEZIM "INFLUENZA A", LOTTO 230068, SCAD, 07/2024
L000685	ELISA competizione

Tabella S10. Moda dei titoli HI. I campioni negativi per gli anticorpi AIV e APMV-1 non sono inclusi nella tabella.

Campione		No.*	Titolo HI	
ID	Tipo		Partecipanti	CRN
S03§	H5N1	12	1:128	1:32 [a] 1:16 [b] 1:128 [c] 1:16 [d]
S04	H5N1	12	1:128	1:64 [a] 1:64 [b] 1:8 [d]
S05§	H5N1	12	1:32	1:8 [a] 1:4 [b] 1:32 [c] 1:4 [d]
S06	H9N2	2	1:128/1:256	1:64 [f]
S07	H4N6	1	1:256	1:256 [i]
S08	APMV-1	10	1:128/1:256	1:128 [g] 1:512 [h]
S09§	H7N8	12	1:128	1:1024 [d] 1:128 [e]
S11§	H7N8	12	1:32	1:256 [d] 1:32 [e]
S12	APMV-1	10	1:128	1:128 [g] 1:256 [h]

Legenda alla Tabella S10

- * Numero di valori forniti $\geq 1:8$
- § Le coppie di campioni S03 e S05 e S09 e S11 sono costituite da siero prodotto a partire rispettivamente dagli antigeni immunogeni *A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022* e *A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021* e preparato a diverse diluizioni
- [] Antigene di riferimento:
- [a] H5N1 A/chicken/Scotland/1/59
 - [b] H5N3 A/teal/England/7394-2805/06
 - [c] H5N1 A/turkey/Italy/21VIR9520-3/2021
 - [d] H7N1 A/African starling/England/983/79
 - [e] H7N7 A/turkey/England/647/77
 - [f] H9N2 A/mallard/Italy/3817-34/05
 - [g] APMV-1/dove/Italy/4400/2000
 - [h] NDV Ulster 2C
 - [i] H4N6 A/mallard/Italy/19VIR7018-9/2019

Tabella S11. Risultati da test aggiuntivi.

ID	Tipo	L000399	L000544	L000545	L000548
S06	H9N2	Positivo H9 (1:256)	Positivo H9, 1:128	AIV H9	AIV H9
S07	H4N6	Positivo H4 (1:256)		Positivo AIV no H5, no H7, no H9	AIV H4

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