



Circuito interlaboratorio  
per l'assicurazione qualità  
dei risultati



Circuito diagnostica bovina e suina mediante tecniche biomolecolari  
**Report definitivi schemi BM01-25, BM03-25, BM04-25,  
BM05-25**

Maggio 2026



## Circuiti interlaboratorio Aqua BM



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

**Aqua BM01-25, BM03-25, BM04-25, BM05-25**

**Ente organizzatore:**

**Istituto Zooprofilattico sperimentale delle Venezie**

**Lab.: Virologia Diagnostica**

**Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (PD)**

**Responsabile del Circuito interlaboratorio Aqua BM:**

**Dr.ssa Letizia Ceglie**

**[lceglie@izsvenezie.it](mailto:lceglie@izsvenezie.it)**

**Esperto tecnico:**

**Dr.ssa Letizia Ceglie**

**[lceglie@izsvenezie.it](mailto:lceglie@izsvenezie.it)**

**049/8084237**

**Esperto statistico:**

**Dr.ssa Marzia Mancin**

**[mmancin@izsvenezie.it](mailto:mmancin@izsvenezie.it)**

**049/8084431**

**Schema BM01, BM03, BM04, BM05**

## REPORT DEFINITIVO

### Introduzione: pianificazione dei circuiti interlaboratorio di diagnostica bovina e suina mediante tecniche biomolecolari

Questo report definitivo contiene i risultati del circuito interlaboratorio, organizzato nell'ambito del Circuito Aqua, dalla U.O Piattaforma Diagnostica Molecolare afferente alla Struttura complessa territoriale di Padova, Vicenza e Rovigo (SCT3), con la finalità di verificare le performance relative a metodiche biomolecolari impiegate per la diagnosi di malattie che colpiscono le specie bovina e suina e per le quali sono state ufficializzate negli anni passati a partire dal 2006 le procedure di prova (PdP) seguenti e successive revisioni:

- Rilevazione dell'RNA del virus della sindrome respiratoria e riproduttiva del suino (PRRSV) mediante rRT-PCR.
- Rilevazione del DNA di *Neospora caninum* mediante PCR (regione conservata del gene codificante per la subunità piccola 18S del rRNA).
- Rilevazione di DNA di *Coxiella burnetii* mediante rPCR (IS1111).
- Rilevazione di DNA di circovirus suino di tipo 2 mediante rPCR (ORF 1).

Sono state sottoposte a *ring test* analisi adottate nella *routine* nei laboratori di biologia molecolare di questo Istituto per diagnosi virologiche e, in un caso, batteriologica e parassitologica. Dal momento che tali indagini sono effettuate con metodiche biomolecolari real-time o end-point (rRT-PCR, PCR r rPCR), presso le U.O. di biologia molecolare dislocate nelle province e regioni di competenza dell'Istituto, questo circuito interlaboratorio è stato proposto anche ai laboratori delle sezioni territoriali al fine di confrontare la riproducibilità interlaboratorio e garantire un'uniformità nei risultati. Al circuito partecipano tutti i laboratori facenti richiesta, come laboratori afferenti ad altri Istituti Zooprofilattici o ad enti privati.

In base alle adesioni ottenute, è stata stilata la seguente tabella che riporta il numero totale dei laboratori partecipanti con l'indicazione per ciascuno gruppo delle prove di interesse:

Circuito interlaboratorio	Totale adesione laboratori
RT-PCR PRRSV (BM1/25)	7
PCR Neospora (BM3/25)	9
<i>Coxiella b.</i> (BM4/25)	8
PCR PCV2 (BM5/25)	5

Infine si precisa che per il laboratorio di Legnaro, l'operatore che esegue il circuito è diverso da chi si occupa dell'allestimento dei campioni per quel circuito.

### 1 – CARATTERISTICHE, COMPOSIZIONE E CONTROLLO DEI CAMPIONI

Per ogni prova sono stati preparati ed inviati 10 campioni anonimi, identificati univocamente; in ogni singola etichetta nell'ordine sono riportati il laboratorio cui è destinato il campione (ad es. lab.3), il circuito di appartenenza del campione cui è riferito il patogeno ricercato (ad es: NEO al posto di BM03/25), la tipologia della matrice di quel campione (ad es. siero/ cellule/ organo/ latte /DNA) e un numero che identifica quel campione (es: 99), univoco per laboratorio/circuito e matrice. I pannelli dei campioni selezionati da esaminare con metodi biomolecolari a scelta (ad es. PCR end-point o Real-time) sono composti per la maggior parte da ceppi di collezione presenti presso la Struttura SCT3 dell'IZSVE. In alcuni casi sono stati impiegati campioni di campo, precedentemente caratterizzati con altri metodi, come ad esempio il sequenziamento dell'amplificato (*Neospora* = cervello bovino positivo) oppure in altri casi abbiamo utilizzato ceppi virali di riferimento (ad es. PRRSV ceppo EU e NA), propagati in colture cellulari competenti e controllati preventivamente per le prove oggetto del circuito. Infine, dal 2025, come già attuato per l'analisi di ricerca di *Coxiella burnetii*, e per uniformarci ad altri colleghi del nostro Istituto impegnati in altri Schemi Aqua, inviamo il pannello in un nuovo conservante/inattivante che mantiene il campione stabile per 7 giorni a temperatura ambiente oppure 28 giorni

a temperatura di refrigerazione, denominato PrimeStore MTM, di cui è stata allegata la scheda di sicurezza ai soli laboratori interessati al momento dell'invio.

In genere le provette destinate a qualsiasi delle analisi contengono materiale per almeno due estrazioni (circa 500-600µl).

I campioni sono esaminati una prima volta per determinare il grado di positività degli stessi, quindi alcuni sono mantenuti tal quali, altri sono allestiti *ad hoc* tramite diluizione di campione positivo in campione negativo, per aumentare la scala di osservazione della rilevabilità del metodo adottato e verificare contemporaneamente il mantenimento delle performance.

Per i campioni costituiti da diluizioni seriali di campione positivo, l'esito atteso è talvolta considerato come "*non definibile a priori*" per diluizioni pari o superiori a quelli cosiddetti "soglia" ossia alla LoD (*lower limit of detection*), normalmente riscontrata in fase di validazione del metodo o di allestimento dei campioni. A tali diluizioni, infatti, l'esito può essere "positivo" o "negativo" per una maggiore o minore sensibilità analitica del metodo impiegato o in alcuni casi "dubbio" se la banda di amplificazione, seppure presente, non è ulteriormente caratterizzabile, come ad es. nel caso di restrizione enzimatica successiva all'amplificazione per la definitiva caratterizzazione dell'amplicone, laddove previsto.

### **Prove di omogeneità e stabilità**

Una volta preparati tutti i campioni selezionati e le relative diluizioni in volumi idonei per l'allestimento dei diversi pannelli, aliquote di ciascun campione sono esaminate una seconda volta per verificare che il grado di positività riscontrato dopo la preparazione corrisponda all'atteso. Se i risultati confermano quelli attesi, i campioni sono immediatamente etichettati e congelati a -80°C, ove restano conservati fino alla spedizione in ghiaccio secco che nel 2025 è avvenuta il 24 giugno, accompagnati da una scheda descrittiva. Inoltre, dopo un primo congelamento e prima dell'invio dei pannelli, 3 aliquote di ciascun campione sono analizzate nel laboratorio preparatore. Precisamente, nell'arco di tempo di 1 settimana successiva alla prima verifica, sono scongelate 3 aliquote di ciascun campione, che vengono conservate a temperatura di refrigerazione ed analizzate in giornate diverse per verificare l'eventuale perdita di segnale a causa dello scongelamento e contestualmente controllare la loro omogeneità. Infine, come prova di stabilità nel tempo alle condizioni di conservazione previste per i pannelli, un operatore appartenente al laboratorio preparatore, ma non coinvolto nella preparazione dei pannelli, esamina un'aliquota di ciascun campione allo scadere del termine di presentazione dei risultati.

Se queste prove danno risultati conformi all'atteso, si considera che né le operazioni di allestimento dei pannelli, né eventuali alterazioni nella conservazione, anche quelle eventualmente subite durante il trasporto possano verosimilmente inficiare l'attendibilità del dato del campione in esame. Viceversa, se durante le prove anche un solo campione non si dimostra stabile o omogeneo, questo viene sostituito nel pannello e le prove sono ripetute per i soli campioni problematici.

## **2 – MODALITÀ DI TRATTAMENTO DEI CAMPIONI**

I campioni non sono inviati sotto forma di liofilati, pertanto non vengono prescritte delle modalità di risospensione. All'atto dell'invio dei pannelli, a ciascun laboratorio partecipante è indirizzata in allegato una lettera che descrive i campioni costituenti i diversi schemi in termini di volumi e matrice. L'indicazione della tipologia della matrice costituente ciascun campione del pannello è presente anche sull'etichetta posta su ciascuna provetta per facilitare le fasi di estrazione dell'acido nucleico oggetto della ricerca, favorendo la massima efficienza di questo passaggio, parte integrante del processo di diagnosi e garantendo, per quanto possibile, una migliore capacità diagnostica del laboratorio esaminatore.

Nei laboratori destinatari i pannelli da esaminare sono da conservare in congelatore fino all'esecuzione dell'analisi. La data ultima per l'invio dei risultati era stabilita per il **30 luglio 2025**.

## **3 – DETERMINAZIONE DEI VALORI ATTESI**

In linea di massima, l'analisi preventiva assegna ad ogni campione preparato l'esito atteso. In genere, nei casi di discordanza con l'atteso, si verifica il dato con quello ottenuto dal laboratorio preparatore, ma si tiene in conto anche dell'andamento preponderante dei laboratori partecipanti.

**Le tabelle seguenti riportano i campioni distribuiti con la relativa descrizione ed il valore atteso:**

Lo schema "PRRS" (BM01/25) contiene 10 provette costituite 3 campioni di omogenati d'organo, 3 di siero e 4 di lisati cellulari infetti.

RT-PCR PRRS	BM01/25	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Organo doppio positivo EU e NA, dil 1:6	<b>positivo NA e positivo EU</b>
2	Organo negativo dil 1:3	<b>negativo</b>
3	Siero negativo dil 1:3	<b>negativo</b>
4	Siero positivo EU-like dil 1:300	<b>positivo EU Italian-like</b>
5	Cellule infette da ceppo EU dil 1:1000	<b>positivo EU</b>
6	Siero positivo EU dil 1:6	<b>positivo EU</b>
7	Organo positivo EU dil 1:30	<b>positivo EU</b>
8	Cellule infette da ceppo NA dil 1:3000	<b>positivo NA</b>
9	Cellule infette da ceppo NA dil 1:300000	<b>positivo NA</b>
10	Cellule infette da ceppo EU dil 1:5 + Cellule infette da ceppo NA dil 1:300000	<b>positivo NA e positivo EU</b>

EU: ceppo PRRS europeo

NA: ceppo PRRS americano

Lo schema "Neospora" (BM03/25) contiene 10 provette: tutti i campioni sono costituiti da omogenati d'organo allestiti tal quali e diluiti.

PCR <i>Neospora caninum</i>	BM03/25	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Organo positivo Neospora dil 1:10	<b>positivo</b>
2	Organo positivo Neospora non diluito	<b>positivo</b>
3	Organo positivo Neospora non diluito	<b>positivo</b>
4°	Organo negativo Neospora, positivo Toxoplasma	<b>Negativo NEO Positivo TOXO</b>
5	Organo positivo Neospora non diluito	<b>positivo</b>
6	Organo positivo Neospora non diluito	<b>positivo</b>
7	Organo positivo Neospora non diluito	<b>positivo</b>
8	Organo negativo	<b>Negativo</b>
9	Organo positivo Neospora non diluito	<b>positivo</b>

10	Organo positivo Neospora non diluito	<b>positivo</b>
----	--------------------------------------	-----------------

Organo °: positivo Toxoplasma.

Lo schema "FQ" (BM04/25) contiene 10 provette in cui sono stati depositati 7 omogenati d'organo e 3 campioni di latte. Per ragioni di sicurezza ed uniformarsi a quanto fatto in altri laboratori del nostro Istituto, come negli anni passati, le aliquote sono state allestite diluendo in un rapporto di 1:3 i preparati in una soluzione conservante/inattivante in grado di mantenere il campione stabile per 7 giorni a temperatura di refrigerazione, denominata PrimeStore Molecular Transport Medium (EKF Diagnostics for Life).

PCR <i>Coxiella burnetii</i>	BM04/25	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Organo positivo <i>Coxiella burnetii</i> non diluito	<b>Positivo</b>
2	Organo positivo dil 1:10 in omogenato negativo	<b>Positivo</b>
3	Organo positivo non diluito	<b>Positivo</b>
4	Organo positivo dil 1:5	<b>Positivo</b>
5	Organo negativo	<b>Negativo</b>
6	Latte negativo	<b>Negativo</b>
7	Latte positivo non diluito	<b>Positivo</b>
8	Organo positivo <i>Coxiella burnetii</i> non diluito	<b>Positivo</b>
9	Organo positivo dil 1:50	<b>Positivo</b>
10	Latte negativo contaminato con ceppo NM di riferimento dil 1:1500	<b>Positivo</b>

Lo schema "PCV2" (BM05/25) contiene 10 provette contenenti campioni costituiti da 5 pool di sieri, da 4 omogenati d'organo diluiti e non diluiti e colture cellulari infette dal virus e diluite.

PCR <i>circovirus tipo 2</i>	BM05/25	
Campione	Descrizione dei campioni	Valore atteso
1	Polmone positivo non diluito	<b>positivo</b>
2	organo positivo dil 1:1000	<b>positivo</b>
3	MR costituito da colture cellulari infette diluito 1:10000	<b>positivo</b>
4	organo negativo	<b>negativo</b>
5	pool di sieri positivi dil. 1:150	<b>positivo</b>
6	pool di sieri positivi dil 1:10	<b>positivo</b>
7	pool di sieri positivi dil 1:1000	<b>positivo</b>
8	pool di sieri negativi	<b>negativo</b>
9	pool di sieri positivi dil 1:2	<b>positivo</b>
10	Polmone positivo non diluito	<b>positivo</b>

#### 4 – DETERMINAZIONE DEI VALORI ASSEGNATI

##### Riservatezza

Per garantire la riservatezza dei dati, i laboratori sono identificati in modo anonimo. A ciascun laboratorio è attribuito un codice, che viene comunicato via mail in forma confidenziale a ciascun partecipante per la decodifica del proprio risultato e può variare di anno in anno in funzione del numero dei partecipanti ai vari schemi. I dati raccolti durante il

circuito interlaboratorio, trattati in forma confidenziale e riservata, sono impiegati dal laboratorio organizzatore soltanto per l'analisi e la valutazione dei risultati.

Di seguito sono presenti le tabelle per la decodifica dei campioni per ciascun pannello e per laboratorio.

#### TABELLE DI DECODIFICA DEI CAMPIONI PER SCHEMA

campione	PRRS BM01-25						
	lab2	lab3	lab8	lab10	lab13	lab14	lab 15
1	24	509	495	221	696	545	26
2	301	474	697	455	816	751	525
3	246	880	229	810	574	213	879
4	553	11	632	739	79	881	408
5	425	155	318	639	413	647	669
6	661	695	504	72	165	98	211
7	136	257	721	398	387	332	835
8	882	320	869	551	539	698	749
9	490	736	464	200	702	192	138
10	707	399	768	166	224	488	376

campione	NEO BM03-25								
	lab2	lab4	lab8	lab9	lab11	lab12	lab16	lab17	lab18
1	271	538	756	559	772	673	358	127	206
2	820	227	292	321	90	249	743	362	308
3	472	821	898	631	441	798	457	656	692
4	513	92	561	766	581	391	285	458	759
5	205	434	453	261	664	494	60	225	473
6	718	602	690	442	350	680	642	195	159
7	621	791	497	850	252	423	877	746	549
8	147	587	733	496	833	845	526	814	466
9	34	381	593	133	177	566	198	537	625
10	360	182	266	895	406	110	824	484	839

campione	FQ BM04-25							
	lab2	lab4	lab7	lab10	lab12	lab16	lab17	lab18
1	872	875	533	548	781	274	750	634
2	22	448	281	412	893	677	555	725
3	796	582	96	176	420	173	219	33
4	238	688	848	659	372	30	132	170
5	531	361	787	720	88	212	56	416
6	336	201	660	403	512	550	476	585
7	635	17	427	19	859	871	825	236
8	161	357	237	340	630	404	609	330
9	270	259	356	290	703	737	354	837
10	426	745	421	807	254	314	583	450

campione	PCV2 BM05-25				
	lab2	lab3	lab10	lab14	lab15
1	226	773	899	73	317
2	514	597	415	505	242
3	324	284	709	276	628
4	876	626	142	197	193
5	240	191	366	479	233
6	774	346	66	355	769
7	157	47	218	462	524
8	684	422	651	793	428
9	447	858	452	874	855
10	25	217	570	641	84

## 5 – PRESENTAZIONE ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

### Elaborazioni statistiche

L'analisi dei campioni del circuito fornisce una risposta di tipo qualitativo: positivo o negativo e in alcuni casi la denominazione del positivo. È importante conoscere la validità di un test, cioè la proporzione di campioni *identificati correttamente* e il Kappa di Cohen è una misura dell'accordo (*coefficient of agreement*) tra le risposte qualitative o categoriali di un laboratorio e del laboratorio di riferimento detto "gold standard" e dei laboratori partecipanti.

L'indice K di concordanza può assumere valori compresi tra -1 (massimo disaccordo) e +1 (massimo accordo). Se l'accordo osservato è uguale all'accordo atteso per effetto del caso, K assume un valore uguale a 0 (accordo nullo). Ad ogni valore di K è associata la significatività (p-value) che indica se l'accordo osservato è reale o semplicemente dovuto al caso.

A scopo interpretativo, si suggerisce l'utilizzo della scala di Landis & Koch così strutturata:

K	Riproducibilità
≤ 0	Scarsissima
0.01-0.20	Scarsa
0.21-0.40	Discreta
0.41-0.60	Moderata
0.61-0.80	Buona
0.81-1.00	Ottima

### 5.1 - RISULTATI E DISCUSSIONE

Nel 2025, quindici diversi laboratori hanno aderito al circuito interlaboratorio Aqua per le analisi di biologia molecolare (BM) che ricercano patogeni nelle specie bovine e suine, che ha comportato la preparazione e spedizione di 29 pannelli dei 4 schemi disponibili. Tutti i laboratori hanno fatto pervenire i dati ottenuti che sono stati analizzati come in precedenza descritto. Come anticipato nel par.1, da questa edizione del circuito interlaboratorio Aqua BM, è stato scelto a livello commerciale un conservante degli acidi che è stato impiegato come diluente dei campioni che compongono i vari pannelli, in grado di preservarli durante il trasporto e la conservazione presso il laboratorio destinatario fino allo svolgimento delle analisi.

Una volta ricevuti i dati dai laboratori partecipanti, i risultati grezzi sono stati controllati e, se necessario, per alcuni campioni e per singola prova, sono state fatte delle considerazioni particolari, riportate nella sezione dei risultati nelle leggende dei grafici. Prima dell'elaborazione statistica, ogni laboratorio ha ricevuto il report preliminare nel quale erano presenti i dati ottenuti da ciascun laboratorio nei diversi schemi e gli esiti attesi.

Dopo elaborazione statistica, i risultati complessivi sono riportati nel presente report, suddivisi per singoli schemi. Per ogni prova i dati elaborati sono presentati in tre tabelle e due grafici: nella prima tabella sono indicati i dati grezzi ottenuti da ciascuno dei laboratori partecipanti. In questa tabella, come da legenda, sono evidenziate in rosso le celle con gli esiti discordanti realmente dall'atteso; in bianco le celle con gli esiti concordanti e in giallo quelle con risultati per i quali sia operata una valutazione a sé stante. Nella seconda tabella sono riportati tutti i laboratori partecipanti con l'indicazione del valore K appaiato al valore della significatività (p-value) per ciascuno di loro ed infine, nell'ultima colonna a destra, sono mostrati i valori "K e p" complessivi di tutto il circuito. Il grafico esemplificativo mostra l'andamento osservato. Nella terza tabella e nel grafico successivo sono presenti i valori di "K e p" ottenuti dai laboratori delle sezioni territoriali dell'IZSve ed il valore complessivo dell'Istituto stesso con l'andamento rappresentato graficamente.

PRRS: ring test per laboratori Circuito Aqua ed IZS-Ve

Tabella 1: dati grezzi

codice lab. /campioni	2	3	8	10	13	14	15
1	positivo NA e EU	positivo NA e EU	positivo NA	positivo NA	positivo NA	positivo NA e EU	positivo NA e EU
2	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
3	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
4	Positivo EU	Positivo EU	Positivo EU	Positivo EU	Positivo EU	Positivo EU	Positivo EU
5	positivo EU	positivo EU	positivo EU	Positivo EU	positivo EU	positivo EU	positivo EU
6	positivo EU	positivo EU	Positivo EU	Positivo EU	positivo EU	positivo EU	positivo EU
7	positivo EU	positivo EU	Positivo EU	Positivo EU	positivo EU	positivo EU	positivo EU
8	positivo NA	positivo NA	positivo NA	positivo NA	positivo NA	positivo NA	positivo NA
9	positivo NA	positivo NA	positivo NA	negativo	positivo NA	positivo NA	positivo NA
10	positivo NA e EU	positivo NA e EU	positivo NA e EU	negativo	positivo NA e EU	positivo NA e EU	positivo NA e EU

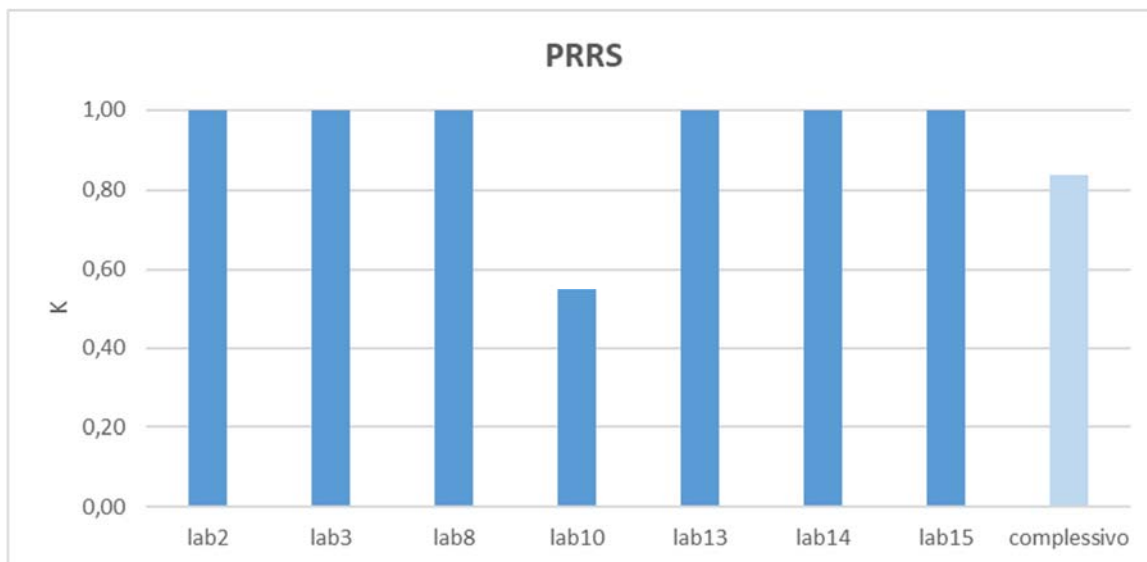
Esito concorde per tutti i laboratori e con l'atteso.

Esito discordante dall'atteso.

Esito discordante dall'atteso considerato accettabile ai fini della valutazione, perché il risultato è congruente con l'atteso per la capacità di rilevazione della presenza del virus della PRRS nel campione. Alcuni laboratori non hanno rilevato la presenza di entrambi i ceppi virali NA e EU in quei campioni, evidenziati in giallo. Si tratta di un campione diluito che presenta nelle prove di stabilità Ct > 30, quindi debole reattività.

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

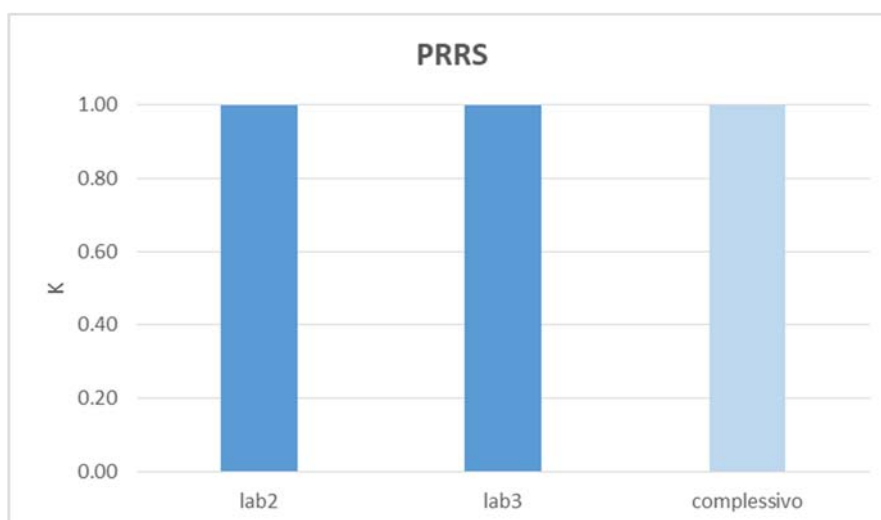
	lab2	lab3	lab8	lab10	lab13	lab14	lab15	complessivo
Kappa	1,0000	1,0000	1,0000	0,5455	1,0000	1,0000	1,0000	0,8380
p-value	0,0008	0,0008	0,0008	0,0264	0,0008	0,0008	0,0008	0



Tutti i laboratori presentano un K significativo e ottimo, ad eccezione del laboratorio 10 che ha manifestato qualche difficoltà nell'identificazione del virus della PRRS in alcuni campioni, tale da valutare l'accordo moderato. L'accordo complessivo tra i laboratori è comunque ottimo.

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

	lab2	lab3	complessivo
<b>Kappa</b>	1,0000	1,0000	1,0000
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008



Tutti i laboratori IZSVe presentano un K significativo e ottimo. L'accordo complessivo tra i laboratori IZSVE è ottimo.

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

Tabella 1: dati grezzi

codice lab. /campioni	2	4	8	9	11	12	16	17	18
1	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
2	positivo	positivo	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
3	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
4°	negativo (pos Toxo)	negativo	negativo	negativo (pos Toxo)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
5	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
6	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
7	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
8	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	positivo	negativo	negativo	negativo
9	positivo	positivo	positivo	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo	positivo
10	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo

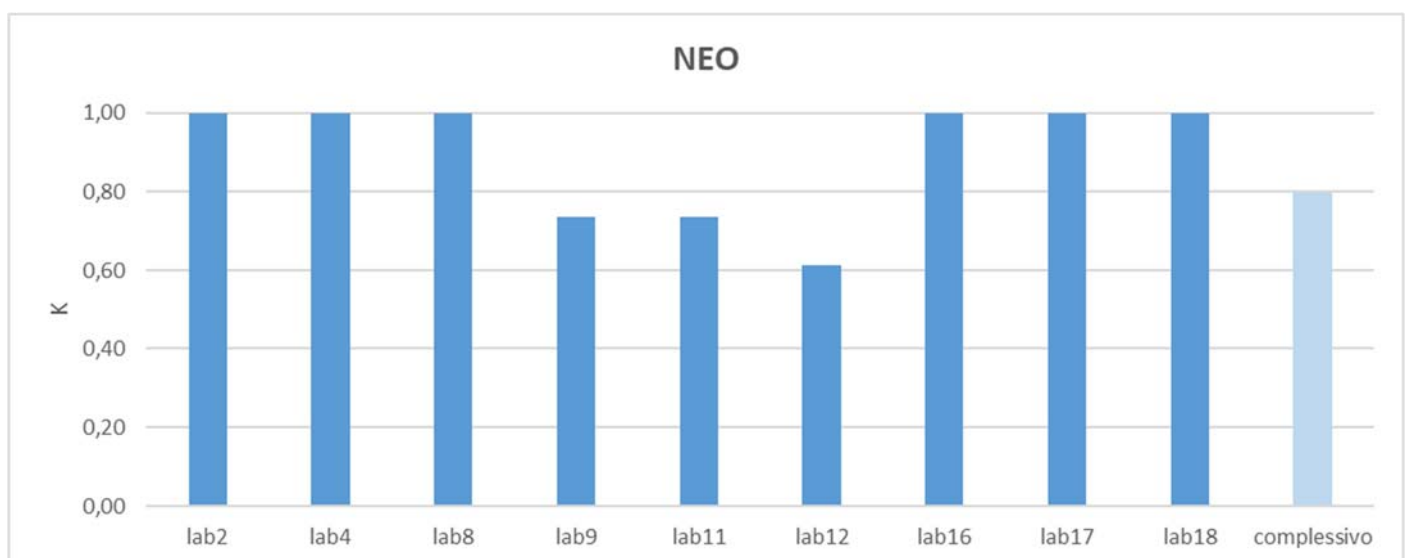
Organo °: positivo Toxoplasma.

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

Esito discordante dall'atteso.

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

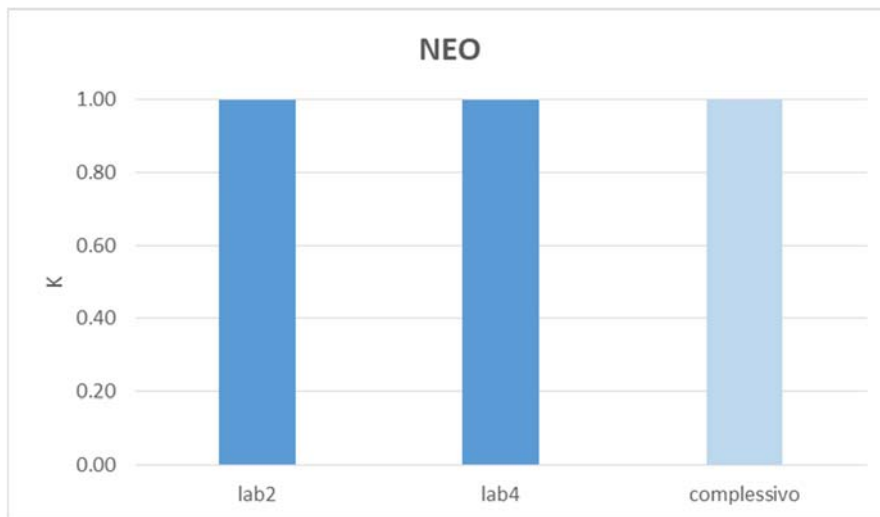
	lab2	lab4	lab8	lab9	lab11	lab12	lab16	lab17	lab18	complessivo
<b>Kappa</b>	1,0000	1,0000	1,0000	0,7368	0,7368	0,6154	1,0000	1,0000	1,0000	0,7999
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008	0,0079	0,0079	0,0175	0,0008	0,0008	0,0008	0,0000



Tutti i laboratori hanno un K significativo e un ottimo accordo con l'esito atteso, ad eccezione dei laboratori 9, 11, 12 che hanno un accordo buono con l'esito atteso. L'accordo complessivo calcolato su tutti i laboratori è buono.

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

	lab2	lab4	complessivo
<b>Kappa</b>	1,0000	1,0000	1,0000
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008



Tutti i laboratori IZSve presentano un K significativo e ottimo. L'accordo complessivo tra i laboratori IZSVE è ottimo.

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

**Tabella 1: dati grezzi**

codice lab. /campioni	2	4	7	10	12	16	17	18
1	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
2	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
3	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
4	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
5	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
6	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	dubbio	negativo
7	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
8	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
9	positivo	positivo	dubbio	positivo	positivo	dubbio	positivo	negativo
10	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo

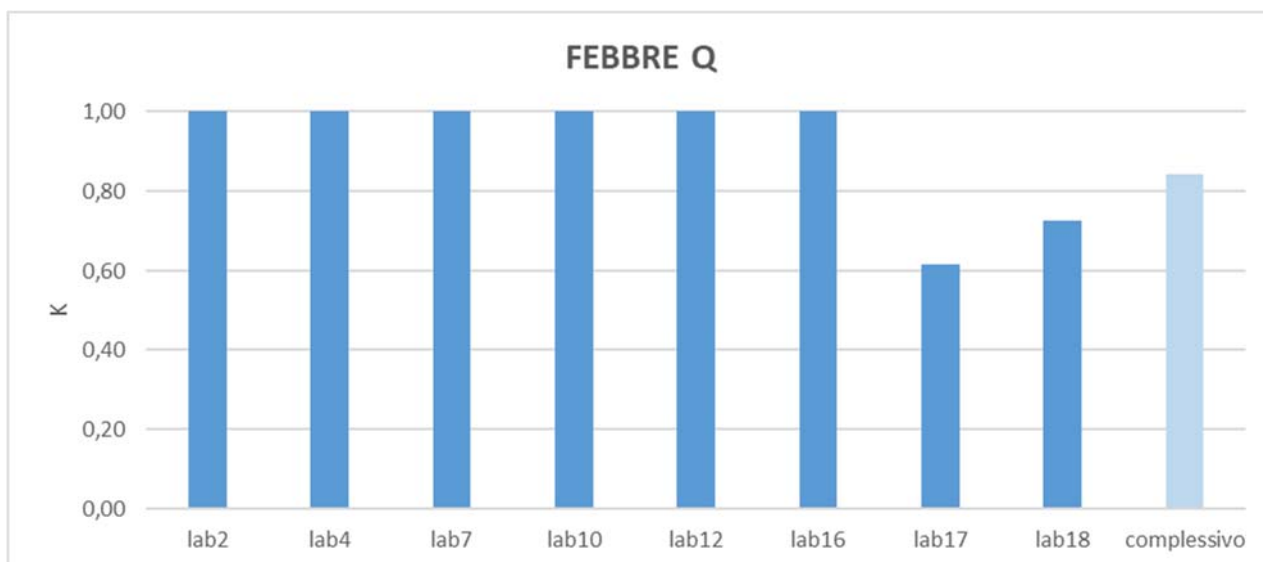
Esito concorde per tutti i laboratori e con l'atteso.

**Esito discordante dall'atteso.**

**Esito discordante dall'atteso, considerato accettabile ai fini della valutazione, perché il risultato è congruente con l'atteso per la capacità di rilevazione della presenza di *Coxiella burnetii* nel campione. Si tratta di un campione diluito che presenta nelle prove di stabilità Ct > 30, quindi debole reattività.**

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

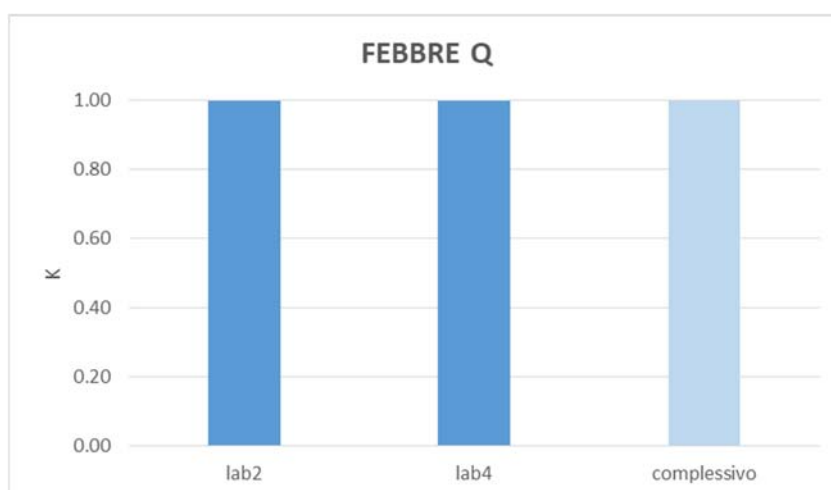
	lab2	lab4	lab7	lab10	lab12	lab16	lab17	lab18	complessivo
<b>Kappa</b>	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,6154	0,7268	0,8438
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0175	0,0079	0,0000



Tutti i laboratori hanno un K significativo e un ottimo accordo con l'esito atteso tranne i laboratori 17 e 18 che hanno un buon accordo con l'esito atteso. L'accordo complessivo calcolato su tutti i laboratori è ottimo.

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

	lab2	lab4	complessivo
<b>Kappa</b>	1,0000	1,0000	1,0000
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0008



Tutti i laboratori IZSve presentano un K significativo e ottimo. L'accordo complessivo tra i laboratori IZSVE è ottimo.

*Circovirus suino tipo 2: ring test per laboratori Circuito Aqua*

**Tabella 1: dati grezzi**

codice lab. /campioni	2	3	10	14	15
1	positivo	positivo	negativo	positivo	positivo
2	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
3	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
4	positivo	negativo	negativo	negativo	negativo
5	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
6	positivo	positivo	dubbio	positivo	positivo
7	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
8	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
9	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
10	positivo	positivo	negativo	positivo	positivo

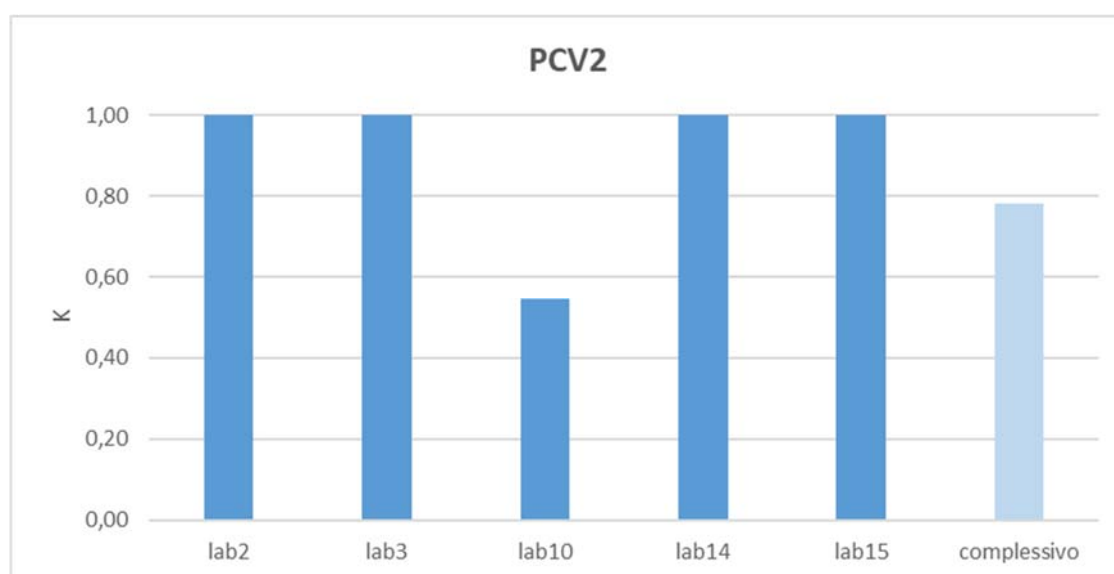
Esito concorde per tutti i laboratori e con l'atteso.

**Esito discordante dall'atteso.**

**Esito discordante dall'atteso considerato accettabile ai fini della valutazione, perché il risultato è congruente con l'atteso per la capacità di rilevazione della presenza del circovirus suino tipo 2 nel campione. Si tratta di un campione diluito che presenta nelle prove di stabilità Ct > 30, quindi debole reattività.**

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

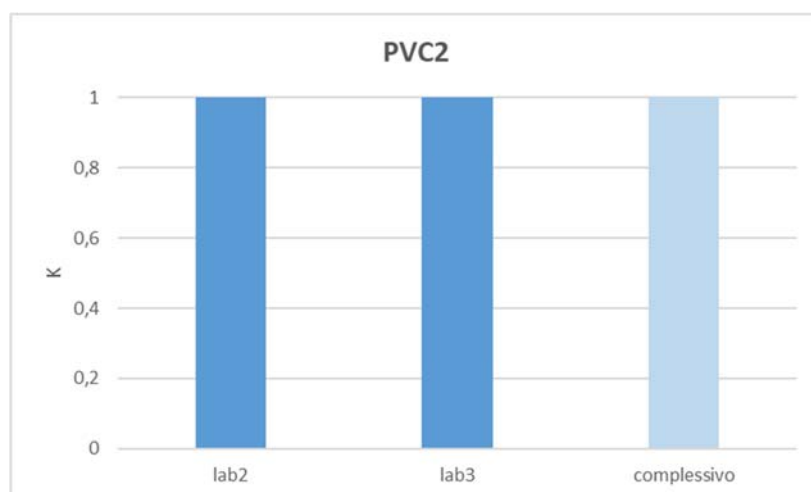
	lab2	lab3	lab10	lab14	lab15	complessivo
<b>Kappa</b>	1,0000	1,0000	0,5455	1,0000	1,0000	0,7807
<b>p-value</b>	0,0008	0,0008	0,0264	0,0008	0,0008	0,0000



Tutti i laboratori presentano un K significativo e ottimo ad eccezione del laboratorio 10 che ha manifestato qualche difficoltà nell'identificazione della PCV2 tale da valutare l'accordo moderato. L'accordo complessivo tra i laboratori è buono.

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

	lab2	lab3	complessivo
Kappa	1	1	1
p-value	0,0008	0,0008	0,0008



Tutti i laboratori IZSVe presentano un K significativo e ottimo. L'accordo complessivo tra i laboratori IZSVE è ottimo.

## 5.2 - CONCLUSIONI

Come si può evincere dai grafici e dalle tabelle sopra rappresentate, l'andamento degli schemi Aqua 2025 ha rilevato qualche problema di identificazione corretta di uno o più campioni per alcuni laboratori nei diversi schemi, tuttavia con i laboratori interessati è stata fatta un'attenta valutazione delle problematiche riscontrate e un'analisi delle cause. Nella maggior parte dei casi, questo disallineamento segnalato già nel report parziale si è verificato in campioni diluiti che presentano reattività deboli oppure borderline e che sono risultati dubbi o negativi in alcuni laboratori partecipanti, pur essendo risultati idonei nelle prove di ripetibilità eseguite nel laboratorio organizzatore. In un paio di casi, si è trattato invece di un errore di inserimento e trasmissione dell'esito ottenuto da parte di un laboratorio partecipante.

Un unico laboratorio ha presentato problematiche di minore sensibilità in più campioni di 2 schemi differenti che talvolta erano diluiti, e talvolta no. In questo caso, la problematica sembra essere ascrivibile ad un problema verosimilmente verificatosi nella fase di estrazione, piuttosto che alla debole reattività dei campioni, in quanto si è verificato con matrici diverse e in un campione non diluito.

Fatta salva questa eccezione, pur considerando l'eterogeneità dei protocolli adottati nei diversi laboratori partecipanti, che includono sia kit commerciali che metodi interni, ma prevalentemente protocolli di real time PCR, il trend del Circuito Aqua di biologia molecolare per la diagnostica bovina e suina è positivo per la maggior parte degli schemi proposti con un valore di concordanza complessivo osservato tra i laboratori ottimo in due casi e buono negli altri due. Nel caso dei laboratori IZSVe, l'agreement registrato è sempre ottimo. Nell'ottica di un mantenimento del servizio a condizioni economiche contenute, gli schemi del Circuito Aqua (BM) di biologia molecolare per la diagnostica bovina e suina saranno proposti ogni due anni.

## 6 – TERMINI E ABBREVIAZIONI

PRRSV: virus della sindrome respiratoria e riproduttiva del suino

PVC: circovirus suino tipo 2

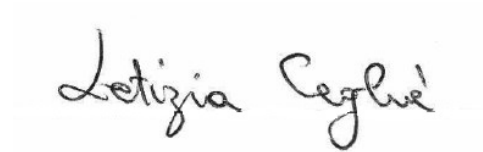
pos: positivo  
neg: negativo

**7 – NOTE**

L'organizzatore ha considerato le prove dei laboratori equivalenti tra loro.

**FINE REPORT DEFINITIVO**

**Data report definitivo 12/05/2026**

A handwritten signature in black ink that reads "Letizia Ceglie". The signature is written in a cursive style with a large initial 'L' and 'C'.

**Responsabile circuito interlaboratorio  
Dr. ssa Letizia Ceglie**