



00139

PROFICIENCY TESTING AQUA IN

Virologia, sierologia e biologia molecolare per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle

Report	Finale
Schema	AQUA IN-M AQUA IN-V AQUA IN-S
Anno di erogazione	2026
Round	1-26
Periodo di esecuzione	02/03/2026 – 17/04/2026
Data emissione	27/05/2026
ID report	AQIN-26R01F-001

ORGANIZZATORE	Centro di Referenza Nazionale (CRN) per l'Influenza Aviaria e la Malattia di Newcastle Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe) Viale dell'Università 10 Legnaro (Padova) - Italia www.izsvenezie.it
RESPONSABILE PT	Calogero Terregino, DVM, PhD cterregino@izsvenezie.it Tel. +39 049 8084377
RESPONSABILE TECNICO	Crispina Veggiateo (AQUA IN-V, AQUA IN-S) cveggiateo@izsvenezie.it Tel. +39 049 8084375
	Viviana Valastro, PhD (AQUA IN-M) vvalastro@izsvenezie.it Tel. +39 049 8084118
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

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 PT sono tenuti alla riservatezza sia relativamente all'identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

Layout report: IZS MOD 501 IN – rev 07 – 04/25 - Report AQUA IN

Come citare il documento:

Valastro Viviana & Terregino Calogero (2026). Proficiency Testing AQUA IN: Virologia, sierologia e biologia molecolare per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle, Report Finale AQIN-26R01F-001. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Centro di Referenza Nazionale (CRN) per l'Influenza Aviaria e la Malattia di Newcastle, Legnaro (PD), Italia

Sommario

Introduzione	5
1. Materiali e Metodi	5
1.1 Proprietà e composizione dei campioni	5
1.1.1 Schema IN-M	5
1.1.2 Schema IN-V	5
1.1.3 Schema IN-S	6
1.2 Valore assegnato	6
1.3 Controllo qualità	6
1.4 Distribuzione.....	6
1.5 Analisi dei campioni	6
1.6 Comunicazione dei risultati	6
1.7 Valutazione dei risultati	6
2. Risultati	14
2.1 Schema IN-M	14
2.2 Schema IN-V	27
2.3 Schema IN-S	31
3. Discussioni	40
3.1 Schema IN-M.....	40
3.2 Schema IN-V	40
3.3 Schema IN-S	41
4. Conclusioni	43
Ringraziamenti	44
Bibliografia	45
APPENDICE I – DATI OPZIONALI	46
Schema AQUA IN-M.....	47
Schema AQUA IN-V.....	59
Schema AQUA IN-S.....	61

Abbreviazioni

AGID	Agar Gel Immuno-Diffusione
BSL3	Laboratorio di Biosicurezza livello 3
CNR	Centro di Referenza Nazionale
Ct	Cycle threshold – Ciclo soglia
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GC	Genomic Copies – Copie genomiche
HPAI	Highly Pathogenic Avian Influenza
LPAI	Low Pathogenic Avian Influenza
PT	Proficiency Testing
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SPF	Specific Pathogen Free

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 PT 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 javaense (APMVs-1) inclusi i virus responsabili della malattia di Newcastle.

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

- IN-M 1-26 "Identificazione del genoma di virus dell'influenza aviaria (influenza tipo A) e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)";
- IN-V 1-26 "Identificazione di antigeni emoagglutinanti ottenuti da virus dell'influenza aviaria (influenza tipo A) e Paramyxovirus aviari/virus della malattia di Newcastle (NDV)";
- IN-S 1-26 "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.

Venticinque (25) laboratori hanno aderito all'edizione 2026 del PT, tra cui ventidue (22) appartenenti ad Istituti Zooprofilattici Sperimentali (II.ZZ.SS.) e tre (3) a enti privati. I campioni sono stati spediti il 23 febbraio per garantire che tutti i partecipanti li ricevessero 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 dal 2 marzo al 17 aprile 2026, data di scadenza per la presentazione dei risultati. Tutti i laboratori hanno rispettato il termine stabilito.

In data 22 aprile è stato pubblicato in AQUAWEB il report preliminare contenente la composizione dei campioni e i valori assegnati.

Il presente report mostra i risultati che sono stati classificati come corretti o non corretti in base ai valori assegnati dal Laboratorio organizzatore. Per misurare le prestazioni dei laboratori partecipanti sono stati utilizzati il K-Cohen e il relativo valore di significatività.

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 sei (6) isolati di influenza aviaria, cinque (5) APMV-1 e un (1) campione negativo. La composizione completa del pannello e i valori assegnati sono riportati nella Tabella 1.

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 embrionate di pollo 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 distribuiti 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, tra cui sei (6) isolati di

influenza aviaria, tre (3) APMV-1 e tre (3) campioni negativi. La composizione completa del pannello e i valori assegnati sono riportati nella Tabella 2.

1.1.3 Schema IN-S

Il materiale da analizzare consisteva di siero ottenuto dopo l'immunizzazione di polli SPF stabulati in condizioni di BSL3 con liquido allantoideo contenente ceppi virali selezionati di AI o APMV mescolato con 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 sei (6) contenenti anticorpi contro virus dell'influenza di tipo A, quattro (4) contenenti anticorpi contro APMV-1 e due (2) campioni negativi. La composizione completa del pannello e i valori assegnati sono riportati nella Tabella 3.

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 4 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 17043:2024 e UNI ISO 13528:2022, utilizzando i metodi contrassegnati dal simbolo † in Tabella 4. 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 possedevano un naturale grado di omogeneità e avevano mantenuto un'adeguata stabilità durante il periodo dell'esercizio.

I risultati delle prove di omogeneità e stabilità sono disponibili, su richiesta, presso l'organizzatore.

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 PT.

1.5 Analisi dei campioni

I partecipanti sono stati invitati a testare i campioni utilizzando i metodi analitici in uso routinariamente presso i loro laboratori, purché conformi a quelli definiti dal CRN e ad applicare i criteri di analisi riportati nella Tabella 5, Tabella 6 e Tabella 7. 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 nella Tabella 5, Tabella 6 e Tabella 7. 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 valutati, 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 10, Tabella 15 e Tabella 19). I metodi applicati per lo stesso misurando sono stati considerati equivalenti per l'elaborazione statistica dei risultati se conformi a quelli stabiliti dall'Organizzazione (Tabella 5, Tabella 6 e Tabella 7).

Inoltre, la statistica kappa (k) è stata usata per tenere conto dell'accordo dovuto al caso nella stima statistica dell'affidabilità inter-rater esistente tra ciascun laboratorio e l'Organizzazione (kappa di Cohen), nonché tra tutti i partecipanti (kappa di Fleiss). Il valore del coefficiente k può variare tra -1 e 1 ; $k = 1$ implica un perfetto accordo, mentre $k = -1$ implica un perfetto disaccordo. Se non c'è accordo tra le risposte, se non quello dovuto al caso, allora $k = 0$. L'interpretazione e la significatività statistica del coefficiente sono date rispettivamente dalla scala di Landis & Koch (Tabella 8) e dal p -value. Un valore di $p \geq 0,05$ è indicativo di accordo dovuto al caso,

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 9). 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 1. Pannello dello schema IN-M – Descrizione e valori assegnati.

ID Campione	Ceppo	Tipo	Patotipo	Lineaggio/Clade/Genotipo	Esito atteso			
					AIV	AIV H5	AIV H7	APMV-1
M01§	AOav-1/chicken/Poland/H346J_24VIR10105-2/2024	APMV-1	Avirulento/ Virulento	II/VII.1.1*	N	N	N	P
M02	A/chicken/Germany-NI/2024AI02735_25VIR2596-3/2024	H7N5	HPAI	Eurasian	P	N	P	N
M03	A/rhea/Portugal/13395-23_23VIR6466-10/2023	H5N3	LPAI	Eurasian	P	P	N	N
M04	A/domestic cat/Italy/25VIR392-19/2025	H5N1	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b	P	P	N	N
M05	APMV-1/dove/Italy/24VIR9980-5/2024	APMV-1	Virulento	VI.2.1*	N	N	N	P
M06	Negativo	-			N	N	N	N
M07	A/Anas platyrhynchos/Belgium/8777_003_22VIR1107-26/2021	H7N8	LPAI	Eurasian	P	N	P	N
M08§	AOav-1/chicken/Poland/H346J_24VIR10105-2/2024	APMV-1	Avirulento/ Virulento	II/VII.1.1*	N	N	N	P
M09	Orthoavulavirus javaense, La Sota	APMV-1	Avirulento	II*	N	N	N	P
M10	A/great black-backed gull/NL/OTH-0105-6_25VIR1375-3/2024	H5N5	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b	P	P	N	N
M11	Negativo	-			N	N	N	N
M12	PPMV-1/Columba livia/Belgium/02736_0001/2025	APMV-1	Virulento	XXI.1.1*	N	N	N	P
M13	A/teal/Italy/24VIR8227-199/2024	H9N3	LPAI	Clade Y8**	P	N	N	N

Le abbreviazioni sono usate come P = Positivo, N = Negativo, AIV = Virus dell'influenza aviaria, APMV-1 = Paramyxovirus aviare di tipo 1, HPAI = Virus dell'influenza aviare ad alta patogenicità, LPAI = Virus dell'influenza aviare a bassa patogenicità

§ La coppia di campioni M01 e M08 contiene lo stesso virus ma diluito a concentrazioni differenti

* Secondo la nomenclatura dei virus della malattia di Newcastle (Dimitrov et al., 2019; <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103917>)

** Secondo la nomenclatura dei virus influenzali di sottotipo H9 (Fusaro et al., 2024)

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

ID Campione	Ceppo	Tipo	Patotipo	Lineaggio/Clade/Genotipo	Titolo [a]	Esito atteso		
						AIV H5	AIV H7	APMV-1
V01	A/mallard/Italy/22VIR9219-6/2022	H5N1	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b	1:256	P	N	N
V02	VG/GA-like	APMV-1	Avirulento	I.1.1*	1:512	N	N	P
V03	A/Anas platyrhynchos/Belgium/10811_6_19VIR8799-53/2019	H5N6	LPAI	Eurasian	1:128	P	N	N
V04	A/common teal/Italy/25VIR1480-237/2025	H7N7	LPAI	Eurasian	1:128	N	P	N
V05	A/great black-backed gull/NL/OTH-0105-6_25VIR1375-3/2024	H5N5	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b	1:128	P	N	N
V06	A/turkey/Italy/12VIR10208-15/2012	H9N2	LPAI	Clade Y8**	1:128	N	N	N
V07	Negativo	-				N	N	N
V08	Negativo	-				N	N	N
V09	Negativo	-				N	N	N
V10	A/mute swan/Slovenia/53/09	H7N7	LPAI	Eurasian	1:64	N	P	N
V11	PPMV-1/pigeon/Italy/23VR9049-4/2023	APMV-1	Virulento	VI.2.1.1.2.2*	1:64	N	N	P
V12	AOav-1/chicken/Poland/H346J_24VIR10105-2/2024	APMV-1	Avirulento/ Virulento	II/VII.1.1*	1:512	N	N	P

Le abbreviazioni sono usate come P = Positivo, N = Negativo, AIV = Virus dell'influenza aviaria, APMV-1 = Paramyxovirus aviare di tipo 1, HPAI = Virus dell'influenza aviare ad alta patogenicità, LPAI = Virus dell'influenza aviare a bassa patogenicità

[a] Valore della moda 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 della malattia di Newcastle (Dimitrov et al., 2019; <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103917>)

** Secondo la nomenclatura dei virus influenzali di sottotipo H9 (Fusaro et al., 2024)

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

ID Campione	Antigene immunizzante				Titolo [a]	Esito Atteso			
	Ceppo	Tipo	Patotipo	Lineaggio/Clade/Genotipo		AIV	AIV H5	AIV H7	APMV-1
S01	A/wigeon/Italy/16VIR9616-3/2016	H5N5	HPAI	Eurasian, clade 2.3.4.4b	1:1024	P	P	N	N
S02	A/mallard/Italy/3817-34/05	H9N2	LPAI	Clade Y8**	1:512	P	N	N	N
S03§	AOav-1/chicken/Poland/H346J_24VIR10105-2/2024	APMV-1	Avirulento/ Virulento	II/VII.1.1*	1:512	N	N	N	P
S04	Negativo	-				N	N	N	N
S05	A/common teal/Italy/21VIR49-88/2021	H7N3	LPAI	Eurasian	1:512	P	N	P	N
S06	NDV La Sota	APMV-1	Avirulento	II	1:512	N	N	N	P
S07	PPMV-1/pigeon/Italy/22VIR12923-2/2022	APMV-1	Virulento	VI.2.1.1.2.2*	1:128	N	N	N	P
S08§	A/chicken/Netherlands/24001946-006010_24VIR4103-5/2024	H5N1	LPAI	Eurasian	1:32	P	P	N	N
S09§	A/chicken/Netherlands/24001946-006010_24VIR4103-5/2024	H5N1	LPAI	Eurasian	1:256	P	P	N	N
S10	Negativo	-				N	N	N	N
S11§	AOav-1/chicken/Poland/H346J_24VIR10105-2/2024	APMV-1	Avirulento/ Virulento	II/VII.1.1*	1:64	N	N	N	P
S12	A/turkey/Italy/20VIR1969-22/2020	H7N1	LPAI	Eurasian	1:256	P	N	P	N

Le abbreviazioni sono usate come P = Positivo, N = Negativo, AIV = Virus dell'influenza aviaria, APMV-1 = Paramyxovirus aviare di tipo 1, HPAI = Virus dell'influenza aviare ad alta patogenicità, LPAI = Virus dell'influenza aviare a bassa patogenicità

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

§ Le coppie di campioni S03 e S11 e S08 e S09 rappresentano diluizioni diverse eseguite con lo stesso stock di siero

* Secondo la nomenclatura dei virus della malattia di Newcastle (Dimitrov et al., 2019; <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103917>)

** Secondo la nomenclatura dei virus influenzali di sottotipo H9 (Fusaro et al., 2024)

* Secondo la nomenclatura aggiornata dei virus della malattia di Newcastle (Dimitrov et al., 2019; <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103917>)

** Secondo la nomenclatura dei virus influenzali di sottotipo H9 (Fusaro et al., 2024)

Tabella 4. 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 1004, PDP VIR 143, PDP VIR 125
	Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7	PDP VIR 1004, 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 Nazionale al seguente indirizzo <https://www.izsvenezie.it/temi/malattie-patogeni/influenza-aviaria/procedure-prova/>

† Metodo applicato per verificare il grado di omogeneità e stabilità dei campioni; la PDP VIR 151 è stata applicata a tutti i campioni positivi per APMV-1, ad eccezione del campione M05, per il quale è stata utilizzata la PDP VIR 1002

* Metodo non disponibile sul sito web dell'IZSve. Sono state applicate le istruzioni del produttore del kit in uso

Tabella 5. 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) presso il CRN, il risultato indicato come "Non testato" o non fornito è accettato e trattato come corretto

Tabella 6. 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 7. 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 8. 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 9. 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 ($K \leq 0.59$ o $p \geq 0.05$)	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 IN-M

I risultati per lo schema IN-M sono stati presentati da ventuno (21) laboratori, e più precisamente da diciotto (18) I.L.ZZ.SS. e tre (3) laboratori privati.

La Tabella 10 riassume le prestazioni complessive differenziate per misurando, mentre i risultati dei singoli laboratori e i relativi punteggi sono riportati nelle Tabelle da 11 a 14. Dati informativi e/o risultati aggiuntivi sono riportati nell'APPENDICE I.

Tabella 10. Analisi delle performance complessive per lo schema IN-M.

Misurando	No.*	Accuratezza (%)	k	p-value	Se (%)	Sp (%)
Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)	21	99,27	0,97	0,00	100,00	98,64
Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5	14	99,45	0,97	0,00	97,62	100,00
Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7	14	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Paramyxovirus aviario di tipo 1/NDV	13	97,04	0,90	0,00	92,31	100,00

Se = Sensibilità; Sp = Specificità

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

Tabella 11. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000348	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000455	
M01§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M02	H7N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M03	H5N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M04	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M05	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M06	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M07	H7N8	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M08§	APMV-1	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	95,24
M09	APMV-1	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	95,24
M10	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M11	Negativo	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	H9N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	100,00	100,00	84,62	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	
Kappa		1,00	1,00	1,00	1,00	0,70	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 11 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546	L000548	L000549	L000586	L000951	
M01§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M02	H7N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M03	H5N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M04	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M05	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M06	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M07	H7N8	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M08§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	95,24
M09	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	95,24
M10	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M11	Negativo	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	H9N3	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 11 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)'.

Campione		Codice Laboratorio	Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000958	
M01§	APMV-1	N	100,00
M02	H7N5	P	100,00
M03	H5N3	P	100,00
M04	H5N1	P	100,00
M05	APMV-1	N	100,00
M06	Negativo	N	100,00
M07	H7N8	P	100,00
M08§	APMV-1	N	95,24
M09	APMV-1	N	95,24
M10	H5N5	P	100,00
M11	Negativo	N	100,00
M12	APMV-1	N	100,00
M13	H9N3	P	100,00
Accuratezza (%)		100,00	
Kappa		1,00	
p-value		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

§ La coppia di campioni M01 e M08 contiene lo stesso virus ma diluito a concentrazioni differenti

Complessivamente, il pannello comprendeva sei (6) AIV positivi e sette (7) AIV negativi

Tabella 12. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000348	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000455	
M01§,*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M02	H7N5	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M03	H5N3	N	NT	NT	NT	NT	P	NT	P	P	NT	92,86
M04	H5N1	P	NT	NT	NT	NT	P	NT	P	P	NT	100,00
M05*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M06*	Negativo	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M07	H7N8	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M08§,*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M09*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M10	H5N5	P	NT	NT	NT	NT	P	NT	P	P	NT	100,00
M11*	Negativo	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M12*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M13	H9N3	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
Accuratezza (%)		92,31					100,00		100,00	100,00		
Kappa		0,75					1,00		1,00	1,00		
p-value		0,00					0,00		0,00	0,00		

Tabella 12 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546	L000548	L000549	L000586	L000951	
M01§,*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M02	H7N5	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M03	H5N3	P	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	92,86
M04	H5N1	P	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M05*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M06*	Negativo	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M07	H7N8	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M08§,*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M09*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M10	H5N5	P	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M11*	Negativo	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M12*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M13	H9N3	N	NT	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	

Tabella 12 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5'.

Campione		Codice Laboratorio	Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000958	
M01§,*	APMV-1	N	100,00
M02	H7N5	N	100,00
M03	H5N3	P	92,86
M04	H5N1	P	100,00
M05*	APMV-1	N	100,00
M06*	Negativo	N	100,00
M07	H7N8	N	100,00
M08§,*	APMV-1	N	100,00
M09*	APMV-1	N	100,00
M10	H5N5	P	100,00
M11*	Negativo	N	100,00
M12*	APMV-1	N	100,00
M13	H9N3	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	
Kappa		1,00	
p-value		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

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

§ La coppia di campioni M01 e M08 contiene lo stesso virus ma diluito a concentrazioni differenti

Complessivamente, il pannello comprendeva tre (3) AIV-H5Nx positivi e dieci (10) AIV-H5Nx negativi

Tabella 13. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000348	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000455	
M01§,*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M02	H7N5	P	NT	NT	NT	NT	P	NT	P	P	NT	100,00
M03	H5N3	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M04	H5N1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M05*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M06*	Negativo	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M07	H7N8	P	NT	NT	NT	NT	P	NT	P	P	NT	100,00
M08§,*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M09*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M10	H5N5	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M11*	Negativo	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M12*	APMV-1	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
M13	H9N3	N	NT	NT	NT	NT	N	NT	N	N	NT	100,00
Accuratezza (%)		100,00					100,00		100,00	100,00		
Kappa		1,00					1,00		1,00	1,00		
p-value		0,00					0,00		0,00	0,00		

Tabella 13 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546	L000548	L000549	L000586	L000951	
M01§,*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M02	H7N5	P	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M03	H5N3	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M04	H5N1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M05*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M06*	Negativo	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M07	H7N8	P	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
M08§,*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M09*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M10	H5N5	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M11*	Negativo	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M12*	APMV-1	N	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
M13	H9N3	N	NT	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	

Tabella 13 (continuazione). Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7'.

Campione		Codice Laboratorio	Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000958	
M01§,*	APMV-1	N	100,00
M02	H7N5	P	100,00
M03	H5N3	N	100,00
M04	H5N1	N	100,00
M05*	APMV-1	N	100,00
M06*	Negativo	N	100,00
M07	H7N8	P	100,00
M08§,*	APMV-1	N	100,00
M09*	APMV-1	N	100,00
M10	H5N5	N	100,00
M11*	Negativo	N	100,00
M12*	APMV-1	N	100,00
M13	H9N3	N	100,00
Accuratezza (%)		100,00	
Kappa		1,00	
p-value		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

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

§ La coppia di campioni M01 e M08 contiene lo stesso virus ma diluito a concentrazioni differenti

Complessivamente, il pannello comprendeva due (2) AIV-H7Nx positivo e undici (11) AIV-H7Nx negativi

Tabella 14. Risultati per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000348	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000455	
M01§	APMV-1	NT	NT	NT	NT	NT	P	P	P	P	NT	100,00
M02	H7N5	NT	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	NT	100,00
M03	H5N3	NT	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	NT	100,00
M04	H5N1	NT	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	NT	100,00
M05	APMV-1	NT	NT	NT	NT	NT	P	N	N	P	NT	69,23
M06	Negativo	NT	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	NT	100,00
M07	H7N8	NT	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	NT	100,00
M08§	APMV-1	NT	NT	NT	NT	NT	P	P	P	P	NT	100,00
M09	APMV-1	NT	NT	NT	NT	NT	P	P	P	P	NT	100,00
M10	H5N5	NT	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	NT	100,00
M11	Negativo	NT	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	NT	100,00
M12	APMV-1	NT	NT	NT	NT	NT	P	P	P	P	NT	92,31
M13	H9N3	NT	NT	NT	NT	NT	N	N	N	N	NT	100,00
Accuratezza (%)							100,00	92,31	92,31	100,00		
Kappa							1,00	0,83	0,83	1,00		
p-value							0,00	0,00	0,00	0,00		

Tabella 14 (continuazione). Risultati per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000469	L000503	L000526	L000527	L000544	L000546	L000548	L000549	L000586	L000951	
M01§	APMV-1	P	NT	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M02	H7N5	N	NT	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M03	H5N3	N	NT	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M04	H5N1	N	NT	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M05	APMV-1	N	NT	P	P	P	P	P	P	NT	P	69,23
M06	Negativo	N	NT	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M07	H7N8	N	NT	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M08§	APMV-1	P	NT	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M09	APMV-1	P	NT	P	P	P	P	P	P	NT	P	100,00
M10	H5N5	N	NT	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M11	Negativo	N	NT	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
M12	APMV-1	P	NT	P	P	P	P	P	N	NT	P	92,31
M13	H9N3	N	NT	N	N	N	N	N	N	NT	N	100,00
Accuratezza (%)		92,31		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	92,31		100,00	
Kappa		0,83		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,83		1,00	
p-value		0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	

Tabella 14 (continuazione). Risultati per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio	Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000958	
M01§	APMV-1	P	100,00
M02	H7N5	N	100,00
M03	H5N3	N	100,00
M04	H5N1	N	100,00
M05	APMV-1	N	69,23
M06	Negativo	N	100,00
M07	H7N8	N	100,00
M08§	APMV-1	P	100,00
M09	APMV-1	P	100,00
M10	H5N5	N	100,00
M11	Negativo	N	100,00
M12	APMV-1	P	92,31
M13	H9N3	N	100,00
Accuratezza (%)		92,31	
Kappa		0,83	
p-value		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
 § La coppia di campioni M01 e M08 contiene lo stesso virus ma diluito a concentrazioni differenti
 Complessivamente, il pannello comprendeva cinque (5) APMV-1 positivi e otto (8) APMV-1 negativi

2.2 Schema IN-V

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

La Tabella 15 riassume le prestazioni complessive differenziate per misurando, mentre i risultati dei singoli laboratori e i relativi punteggi sono riportati nelle Tabelle da 16 a 18. Dati informativi e risultati aggiuntivi sono riportati nell'APPENDICE I.

Tabella 15. 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/NDV	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 16. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H5'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544	L000546	L000548	L000549	L000951	
V01	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V02	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V03	H5N6	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V04	H7N7	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V05	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V06	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V07*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V08*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V09*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V10	H7N7	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, 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

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

Complessivamente, il pannello comprendeva tre (3) AIV-H5Nx positivi e nove (9) AIV-H5Nx negativi

Tabella 17. Risultati per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria di sottotipo H7'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544	L000546	L000548	L000549	L000951	
V01	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V02	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V03	H5N6	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V04	H7N7	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V05	H5N5	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V06	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V07*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V08*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V09*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V10	H7N7	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, 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

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

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

Tabella 18. Risultati per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio									Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544	L000546	L000548	L000549	L000951	
V01	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V02	APMV-1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
V03	H5N6	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V04	H7N7	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V05	H5N5	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V06	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
V07*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V08*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V09*	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
V10	H7N7	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, NT = Non testato
 In nero: risultato corretto; in rosso: risultato diverso dal valore assegnato

* Il risultato "Non testato" o non fornito è accettato e trattato come "Negativo" per la valutazione dei risultati
 Complessivamente, il pannello comprendeva tre (3) APMV-1 positivi e nove (9) APMV-1 negativi

2.3 Schema IN-S

I risultati per lo schema IN-S sono stati presentati da tredici (13) laboratori appartenenti agli II.ZZ.SS..

La Tabella 19 riassume le prestazioni complessive differenziate per misurando, mentre i risultati dei singoli laboratori e i relativi punteggi sono riportati nelle Tabelle da 20 a 23. Dati informativi e risultati aggiuntivi sono riportati nell'APPENDICE I.

Tabella 19. Analisi delle performance complessive per lo schema IN-S.

Misurando	No.*	Accuratezza (%)	k	p-value	Se (%)	Sp (%)
Anticorpi contro virus dell'influenza aviaria	13	100,00	1,00	0,00	100,00	100,00
Anticorpi contro il sottotipo H5 del virus dell'influenza aviaria	12	98,61	0,94	0,00	100,00	98,15
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/NDV	9	99,16	0,96	0,00	97,50	100,00

Se = Sensibilità; Sp = Specificità

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

Tabella 20. 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	L000546	L000548	L000549	L000550	L000551	
S01	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S02	H9N2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S03§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S04	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S05	H7N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S06	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S07	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S08§	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S09§	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S10	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S11§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S12	H7N1	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 20 (continuazione). Risultati per il misurando 'Anticorpi contro i virus dell'influenza aviaria di tipo A'.

Campione		Codice Laboratorio			Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000948	L000951	L000955	
S01	H5N5	P	P	P	100,00
S02	H9N2	P	P	P	100,00
S03§	APMV-1	N	N	N	100,00
S04	Negativo	N	N	N	100,00
S05	H7N3	P	P	P	100,00
S06	APMV-1	N	N	N	100,00
S07	APMV-1	N	N	N	100,00
S08§	H5N1	P	P	P	100,00
S09§	H5N1	P	P	P	100,00
S10	Negativo	N	N	N	100,00
S11§	APMV-1	N	N	N	100,00
S12	H7N1	P	P	P	100,00
Accuratezza (%)		100,00	100,00	100,00	
Kappa		1,00	1,00	1,00	
p-value		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 S12 e S08 e S09 sono costituite dallo stesso siero preparato a diverse diluizioni

Complessivamente, il pannello comprendeva sei (6) campioni positivi agli anticorpi AIV e sei (6) negativi

Tabella 21. 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	L000546	L000548	L000549	L000550	L000551	
S01	H5N5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S02	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S03§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S04	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S05	H7N3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S06	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S07	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S08§	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S09§	H5N1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S10	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S11§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S12	H7N1	P	N	N	N	N	N	N	N	N	P	83,33
Accuratezza (%)		91,67	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	91,67	
Kappa		0,80	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,80	
p-value		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

Tabella 21 (continuazione). Risultati per il misurando 'Anticorpi contro il sottotipo H5 dei virus dell'influenza aviaria'.

Campione		Codice Laboratorio			Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000948	L000951	L000955	
S01	H5N5	NT	P	P	100,00
S02	H9N2	NT	N	N	100,00
S03§	APMV-1	NT	N	N	100,00
S04	Negativo	NT	N	N	100,00
S05	H7N3	NT	N	N	100,00
S06	APMV-1	NT	N	N	100,00
S07	APMV-1	NT	N	N	100,00
S08§	H5N1	NT	P	P	100,00
S09§	H5N1	NT	P	P	100,00
S10	Negativo	NT	N	N	100,00
S11§	APMV-1	NT	N	N	100,00
S12	H7N1	NT	N	N	83,33
Accuratezza (%)			100,00	100,00	
Kappa			1,00	1,00	
p-value			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 S12 e S08 e S09 sono costituite dallo stesso siero preparato a diverse diluizioni
 Complessivamente, il pannello comprendeva tre (3) campioni positivi agli anticorpi AIV-H5 e nove (9) negativi

Tabella 22. 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	L000546	L000548	L000549	L000550	L000551	
S01	H5N5	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S02	H9N2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S03§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S04	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S05	H7N3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	100,00
S06	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S07	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S08§	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S09§	H5N1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S10	Negativo	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S11§	APMV-1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	100,00
S12	H7N1	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 22 (continuazione). Risultati per il misurando 'Anticorpi contro il sottotipo H7 dei virus dell'influenza aviaria'.

Campione		Codice Laboratorio			Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000948	L000951	L000955	
S01	H5N5	NT	N	N	100,00
S02	H9N2	NT	N	N	100,00
S03§	APMV-1	NT	N	N	100,00
S04	Negativo	NT	N	N	100,00
S05	H7N3	NT	P	P	100,00
S06	APMV-1	NT	N	N	100,00
S07	APMV-1	NT	N	N	100,00
S08§	H5N1	NT	N	N	100,00
S09§	H5N1	NT	N	N	100,00
S10	Negativo	NT	N	N	100,00
S11§	APMV-1	NT	N	N	100,00
S12	H7N1	NT	P	P	100,00
Accuratezza (%)			100,00	100,00	
Kappa			1,00	1,00	
p-value			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 S12 e S08 e S09 sono costituite dallo stesso siero preparato a diverse diluizioni
 Complessivamente, il pannello comprendeva due (2) campioni positivi agli anticorpi AIV-H7 e dieci (10) negativi

Tabella 23. Risultati per il misurando 'Anticorpi contro i paramyxovirus aviari di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio										Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000546	L000548	L000549	L000550	L000551	
S01	H5N5	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
S02	H9N2	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
S03§	APMV-1	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	NT	100,00
S04	Negativo	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
S05	H7N3	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
S06	APMV-1	NT	P	P	P	P	P	P	P	N	NT	90,00
S07	APMV-1	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	NT	100,00
S08§	H5N1	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
S09§	H5N1	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
S10	Negativo	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	100,00
S11§	APMV-1	NT	P	P	P	P	P	P	P	P	NT	100,00
S12	H7N1	NT	N	N	N	N	N	N	N	N	NT	90,00
Accuratezza (%)			100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	91,67		
Kappa			1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,80		
p-value			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		

Tabella 23 (continuazione). Risultati per il misurando 'Anticorpi contro i paramyxovirus aviari di tipo 1'.

Campione		Codice Laboratorio			Accuratezza (%)
ID	Tipo	L000948	L000951	L000955	
S01	H5N5	NT	N	N	100,00
S02	H9N2	NT	N	N	100,00
S03§	APMV-1	NT	P	P	100,00
S04	Negativo	NT	N	N	100,00
S05	H7N3	NT	N	N	100,00
S06	APMV-1	NT	P	P	90,00
S07	APMV-1	NT	P	P	100,00
S08§	H5N1	NT	N	N	100,00
S09§	H5N1	NT	N	N	100,00
S10	Negativo	NT	N	N	100,00
S11§	APMV-1	NT	P	P	100,00
S12	H7N1	NT		N	90,00
Accuratezza (%)			91,67	100,00	
Kappa			0,83	1,00	
p-value			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 S12 e S08 e S09 sono costituite dallo stesso siero preparato a diverse diluizioni
 Complessivamente, il pannello comprendeva quattro (4) campioni positivi agli anticorpi APMV-1 e otto (8) negativi

3. Discussioni

Ciascun laboratorio è stato valutato secondo criteri basati sul k di Cohen e sul valore p associato (Tabella 9), che riflettono il grado di accordo con i valori assegnati (Tabella 1, Tabella 2 e Tabella 3).

La valutazione attribuita alle prestazioni di ciascun partecipante è riportata nella Tabella 24, Tabella 25 e Tabella 26, rispettivamente per gli schemi IN-M, IN-V e IN-S.

3.1 Schema IN-M

Lo schema è stato condotto con un tasso di successo pari al 99,01%. Complessivamente, sono stati registrati otto esiti non conformi, di cui due attribuibili a falsi positivi per il misurando AIV.

I falsi positivi sono stati riportati dal laboratorio L000390, che ha classificato i campioni M08 e M09 come positivi per AIV, sebbene contenessero ceppi di APMV-1 (Tabella 11). La non corrispondenza osservata è da attribuire a una probabile contaminazione verificatasi durante le fasi analitiche; gli alti valori di Ct riportati dal laboratorio per i due campioni sopramenzionati sembrano supportare tale ipotesi (Tabella S2). Sulla base delle evidenze disponibili, si potrebbe al contempo escludere una mancanza intrinseca di specificità del metodo impiegato che ha, infatti, dimostrato di essere specifico e conforme all'uso previsto quando applicato dal CRN e da altri laboratori partecipanti.

Ulteriori quattro esiti non conformi riguardano la mancata identificazione del campione M05 (APMV-1) da parte dei laboratori L000411, L000438, L000469 e L000958 (Tabella 14). Tale non corrispondenza è attribuibile al metodo analitico impiegato (qRT-PCR secondo Sutton et al., 2019; 'IZSve PDP VIR 151 rev. 03'). In particolare, la mancata rilevazione risulta verosimilmente associata alla presenza di mismatch multipli nella regione di annealing della sonda rispetto alla sequenza nucleotidica del virus, con conseguente riduzione dell'efficienza di amplificazione. Questo esito è coerente con le osservazioni del CRN, secondo cui il medesimo metodo ha evidenziato l'incapacità di rilevare alcuni specifici ceppi di APMV-1 della variante Pigeon Paramyxovirus identificati di recente in Columbiformes selvatici in Italia, tra i quali il ceppo contenuto nel campione M05. La scelta di includere questo ceppo nel PT dell'anno in corso è derivata dalla necessità di verificare se i laboratori partecipanti disponessero di metodi diagnostici aggiornati rispetto a quello raccomandato dal CRN, in grado di rilevare virus caratterizzati dalle peculiarità sopra descritte. In questo contesto, il metodo alternativo basato sulla RT-PCR secondo Kant et al. (1997) ('IZSve PDP VIR 1002 rev. 00') ha evidenziato prestazioni adeguate, consentendo la corretta identificazione del campione M05.

Sebbene la PDP VIR 151 continui a mostrare ottime performance nei confronti della maggior parte dei ceppi di NDV attualmente circolanti, le evidenze emerse hanno reso opportuno lo sviluppo di un metodo aggiornato di screening real-time per APMV-1. La nuova procedura sarà resa disponibile sul sito web del CRN non appena completato il relativo processo di sviluppo e validazione attualmente in corso.

Un ulteriore risultato falso negativo è stato trasmesso da L000549 che non ha riconosciuto il campione M12 come contenente un ceppo di APMV-1 (Tabella 14). Allo scopo di verificare se il fallimento sia da attribuire ad una subottimale performance del metodo utilizzato piuttosto che ad un errore procedurale, il laboratorio è incoraggiato a testare nuovamente il campione e comunicare gli esiti al CRN. Qualora vengano ottenuti simili risultati, si raccomanda al laboratorio di considerare la sostituzione del metodo impiegato per la diagnosi di APMV-1.

Infine, un risultato falso negativo è stato trasmesso da L000342 per il campione M03 (H5N3) e il misurando H5 (Tabella 12). Il laboratorio ha impiegato il saggio basato sul protocollo di Hassan et al., 2022, corrispondente a 'IZSve PDP VIR 1004 rev. 00'. Vale la pena notare che il laboratorio è stato comunque in grado di identificare il campione con un secondo metodo a sua disposizione, cioè il metodo PDP VIR 143, riportando nel campo della maschera risultati destinato ai commenti la positività al target con un Ct pari a 26,56 (Tabella S6). Il CRN conferma che il medesimo metodo 'IZSve PDP VIR 1004 rev. 00' ha fallito quando applicato nel proprio laboratorio, diversamente dai saggi 'IZSve PDP VIR 143 rev. 04' e 'IZSve PDP VIR 125 rev. 04'.

3.2 Schema 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.

3.3 Schema IN-S

I tredici (13) 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 99,29%. Ad eccezione di un risultato falso negativo, due falsi positivi e uno non dato, tutti gli esiti riportati sono stati 100% concordanti con quelli attesi.

In dettaglio, le discrepanze hanno riguardato la non corretta determinazione del siero contenuto nel campione S12 (H7N1) da parte di due laboratori che hanno considerato il campione positivo sia agli anticorpi contro AIV-H7 che anche erroneamente agli anticorpi AIV-H5 (Tabella 21). In particolare, il laboratorio L000342 ha riportato un titolo di 1:256 e 1:32 rispettivamente per gli antigeni H5 e H7 utilizzati, mentre il laboratorio L000551 titoli di 1:512 e 1:32 (Tabella S11).

L'origine di tali esiti potrebbe essere legata alla cross reazione dovuta al sottotipo N in comune tra il siero contenuto nel campione e il reagente usato come antigene nel test HI, reazione dimostrata anche dai test effettuati al CRN. Diversamente però dal CRN che ha osservato reazioni H5-aspecifiche deboli (titolo HI = 1:16 e 1:32 con antigeni H5N1 A/chicken/Scotland/1/59 e H5N1 A/turkey/Italy/21VIR9520-3/2021H5N1, rispettivamente, Tabella S12) o assenti (con l'antigene H5N3 A/teal/England/7394-2805/06), L000342 e L000551 hanno ottenuto titoli maggiori nei confronti degli antigeni eterologhi piuttosto che verso gli antigeni del medesimo sottotipo di cui era costituito il campione (Tabella S11). Per prevenire tali false interpretazioni, si raccomanda di includere tra i reagenti in uso due antigeni diversi per ogni sottotipo, o almeno per H5 e H7, con N differente.

Il rimanente risultato errato è stato trasmesso per la rilevazione degli anticorpi contro APMV-1, per cui è stata ottenuta un'accuratezza complessiva del 99,16% con i valori assegnati (Tabella 19). Il campione S06 (APMV-1, titolo HI rispetto all'antigene omologo = 1:512) è stato classificato come negativo da L000550 (Tabella 23). Vale la pena notare però che il falso negativo presentato da questo laboratorio è stato molto probabilmente la conseguenza di un errore di inserimento dei dati. Infatti, è stata evidenziata una discrepanza tra il risultato indicato e le informazioni supplementari fornite. Il campione è stato riferito come positivo ND con un titolo di 1:512 (Tabella S13) sebbene nessun esito e nessun titolo siano stati riportati nei campi pertinenti.

Infine, sempre per una probabile inesattezza nel riportare i risultati, il laboratorio L000951 ha mancato di trasmettere un'interpretazione per il campione S12 rispetto al misurando APMV-1 (Tabella 23). Sebbene abbia riferito il campione come positivo per AIV-H7 (Tabella 22) con un titolo pari a 1:32 (Tabella S11 e Tabella S13) il laboratorio ha di fatto lasciato il campo esito privo di un valore tra i possibili selezionabili (Positivo/Negativo/Non testato).

Tabella 24. Valutazione assegnata per lo schema IN-M.

Codice laboratorio	Misurando			
	AIV (gene M/NP)	AIV-H5	AIV-H7	APMV-1
L000342	Accettabile	Discutibile	Accettabile	
L000348	Accettabile			
L000356	Accettabile			
L000358	Accettabile			
L000390	Discutibile			
L000399	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000411	Accettabile			Discutibile
L000438	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Discutibile
L000452	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000455	Accettabile			
L000469	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Discutibile
L000503	Accettabile			
L000526	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000527	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000544	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000546	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000548	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000549	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Discutibile
L000586	Accettabile	Accettabile	Accettabile	
L000951	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000958	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Discutibile

Tabella 25. 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
L000546	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000548	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000549	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000951	Accettabile	Accettabile	Accettabile

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

Codice laboratorio	Misurando			
	AIV (Abs)	AIV-H5 (Abs)	AIV-H7 (Abs)	APMV-1 (Abs)
L000342	Accettabile	Discutibile	Accettabile	
L000399	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000438	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000526	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000544	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000546	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000548	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000549	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile
L000550	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Discutibile
L000551	Accettabile	Discutibile	Accettabile	
L000948	Accettabile			
L000951	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Discutibile*
L000955	Accettabile	Accettabile	Accettabile	Accettabile

* Valutazione attribuita in ragione di un numero di risultati riportati inferiore a quello atteso, non correlata a errori analitici

4. Conclusioni

Il PT AQUA IN organizzato dal CRN per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle nell'edizione del 2026 ha visto la partecipazione di venticinque (25) laboratori nazionali. 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, si raccomanda a tutti i partecipanti che hanno ottenuto risultati non conformi di riesaminare i campioni per i quali non sia stata fornita un'interpretazione accurata per escludere errori tecnici verificatisi durante la fase analitica che potrebbero aver compromesso il successo dei metodi utilizzati. Nel caso in cui si ottengano gli stessi risultati, si suggerisce una revisione delle procedure o l'adozione di protocolli alternativi che si siano dimostrati idonei allo scopo. Un'ulteriore azione correttiva dovrebbe prendere in considerazione anche la possibilità di rivalutare l'algoritmo diagnostico attualmente utilizzato.

Tali azioni correttive sono fortemente incoraggiate anche nel caso in cui le procedure e i metodi impiegati avessero restituito risultati corretti ma con valori che si discostano significativamente e sistematicamente dai valori medi stimati sulla base dei dati del CRN.

Sebbene non siano stati riportati esiti falsi negativi per il misurando H7, il CRN ritiene opportuno evidenziare alcune anomalie nei dati riportati. In particolare, il saggio real-time 'IZSVE PDP VIR 144 rev. 03', indicato da un partecipante come metodo impiegato (Tabella S1), quando utilizzato dal CRN non ha consentito l'identificazione dei campioni M02 (H7N5) e M07 (H7N8), anche in presenza di concentrazioni di RNA virale target significativamente superiori rispetto a quelle utilizzate per la preparazione dei campioni prova. Tale limitazione è attribuibile alla presenza di mismatch multipli nella regione di annealing degli oligonucleotidi rispetto alla sequenza consenso dei ceppi contenuti nei campioni M02 e M07.

Al contrario, l'applicazione della RT-PCR convenzionale 'IZSVE PDP VIR 126 rev. 04' e del saggio real-time 'IZSVE PDP VIR 1004 rev. 00', entrambi validati e accreditati dal CRN, ha consentito la corretta identificazione dei campioni.

Alla luce di queste ed altre evidenze, i laboratori sono invitati a mantenere aggiornati i propri metodi analitici e ad adottare tutte le azioni necessarie per garantire un'accurata identificazione dei patogeni di interesse, in conformità alle raccomandazioni del CRN. Si raccomanda inoltre di riportare il metodo effettivamente impiegato, in quanto eventuali discrepanze rispetto ai risultati ottenuti dal CRN con il medesimo metodo dovrebbero essere adeguatamente giustificate, analogamente agli esiti non conformi.

Analoghe considerazioni si applicano all'identificazione dei paramyxovirus aviari di tipo 1 nei saggi molecolari. In particolare, un laboratorio ha indicato l'impiego della metodica 'IZSVE PDP VIR 151 rev. 03', che ha dimostrato l'incapacità di rilevare il ceppo italiano presente nel campione M05, anche a concentrazioni elevate di RNA target. Come già riportato nella sezione dei risultati, la corretta identificazione del campione è stata invece ottenuta mediante la metodica 'IZSVE PDP VIR 1002 rev. 00'.

Il CRN 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 l'implementazione dei test diagnostici raccomandati dal Centro di Referenza Nazionale presso i propri laboratori. Si ricorda che tali metodi sono disponibili nel [sito web IZSVE](#).

Ringraziamenti

Il Laboratorio Organizzatore desidera ringraziare tutti i partecipanti per il tempo e l'impegno dedicati all'analisi dei campioni e per aver rispettato i tempi stabiliti per l'invio dei risultati. Ci auguriamo che la partecipazione a questo Proficiency Testing e i suggerimenti forniti in questo report possano migliorare le prestazioni diagnostiche dei partecipanti.

Data report finale: 27/05/2026

Calogero Terregino, DVM, PhD
Responsabile Proficiency Testing AQUA IN



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.

Fusaro A, Pu J, Zhou Y, Lu L, Tassoni L, Lan Y, Lam TT, Song Z, Bahl J, Chen J, Gao GF, Monne I, Liu J; International H9 Evolution Consortium. 2024. Proposal for a Global Classification and Nomenclature System for A/H9 Influenza Viruses. *Emerg Infect Dis.* 30(8):1-13. doi: 10.3201/eid3008.231176.

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>.

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

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura

UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2024 Valutazione della conformità – Requisiti generali per la competenza dei provider di prove valutative interlaboratorio

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

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 (AAvV-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.

APPENDICE I – DATI OPZIONALI*

Schema AQUA IN-M	47
Schema AQUA IN-V	59
Schema AQUA IN-S	61

* 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 nell'interpretazione dei risultati.

Schema AQUA IN-M

Tabella S1. Metodi impiegati per lo schema AQUA IN-M.

Codice laboratorio	AIV (M/NP)	AIV-H5	AIV-H7	APMV-1
L000342	PDP VIR 018 rev, 10	PDP VIR 1004 rev, 00	PDP VIR 1004 rev, 00	
L000348	PDP VIR 018 2025 Rev, 10 + ALL PDP 1000 2025 Rev, 3			
L000356	KyIt® Influenza A Real-Time RT-PCR Detection Kit for Avian Influenza Virus Type A			
L000358	Real-time e/o RT-PCR convenzionale			
L000390	SOP/VIR-1000-SOP/VIR/018 EURL AI/ND2021 mediante RT-PCR			
L000399	Metodo fornito da IZS Venezie PDP VIR 018 rev 10 - 10/25	Metodo fornito da IZS Venezie PDP VIR 143 rev 04 - 07/24	Metodo fornito da IZS Venezie PDP VIR 1004 rev 00 - 10/24	Metodo fornito da IZS Venezie PDP VIR 151 rev 03- 05/22
L000411	Rilevazione del virus dell'influenza aviaria (tipo A) mediante real-time RT-PCR (Heine et al., 2015; Laconi et al., 2020) (rev,10 – 10/25)			Rilevazione del paramyxovirus aviario di tipo 1 (APMV-1) mediante Real-time RT-PCR (Sutton et al., 2019) (rev, 03 – 05/22)
L000438	Protocollo Real-time PCR Influenza aviare AIV-SOPVIR1000 + SOPVIR018 EURL AI/ND 2021	Monne et al, Development and Validation of a One-Step Real-Time PCR Assay for Simultaneous Detection of Subtype H5, H7, and H9 Avian Influenza Viruses, Journal of Clinical Virology, 2008	Monne et al, Development and Validation of a One-Step Real-Time PCR Assay for Simultaneous Detection of Subtype H5, H7, and H9 Avian Influenza Viruses, Journal of Clinical Virology, 2008	Protocollo Real-time PCR NDV-EURL AI/ND SOPVIR151 rev,2
L000452	PO 46 rev,3:2025	Indical	Indical	GENOVO; Life Technologies
L000455	Rilevazione del virus dell'influenza aviaria (tipo A) mediante real-time RT-PCR (Heine et al., 2015; Laconi et al., 2020)			
L000469	IZS VENEZIE PDP VIR 018 Rev,09-12/24	IZS VENEZIE PDP VIR 143 Rev,04-08/24	IZS VENEZIE PDP VIR 144 Rev,03-06/22	IZS VENEZIE PDP VIR 151 Rev,03-05/22

Tabella S1 (continuazione). Metodi impiegati per lo schema AQUA IN-M.

Codice laboratorio	AIV (M/NP)	AIV-H5	AIV-H7	APMV-1
L000503	ONESTEP REAL-TIME PCR: SLOMKA M,J,, DENSHAM A,L,, COWARD V,J,, ESSEN S,, BROOKES S,M,, IRVINE R,M,, SPACKMAN E,, RIDGEON J,, GARDNER R,, HANNA A,, SUAREZ D,L, & BROWN I,H, (2010), Real time reverse transcription (RRT)-polymerase chain reaction (PCR) methods for detection of pandemic (H1N1) 2009 influenza virus and European swine influenza A virus infections in pigs, Influenza Other Respir, Viruses, 4, 277–293,			
L000526	RT-PCR Convenzionale "END- POINT" Gene M (Spackman et al, adattato)	RT-PCR Convenzionale "END- POINT" (Slomka et al, 2007) - PDP VIR 125 Rev,04-03/22	RT-PCR Convenzionale "END- POINT" (Slomka et al, 2007) - PDP VIR 126 Rev,04-03/23	Real Time RT-PCR (Wise et al, 2004)
L000527	DAQIOBM000025 rev,5 (Ricerca del virus dell' influenza A con One- step RT-PCR); DAQIOBM000048 rev,1 (Ricerca del Virus dell'Influenza A con il kit virotype® Influenza A RT-PCR - Indical Bioscience)	DAQIOBM000061 rev, 2 (Tipizzazione Influenza A con kit virotype® Influenza A H5/H7/H9 Indical)	DAQIOBM000061 rev, 2 (Tipizzazione Influenza A con kit virotype® Influenza A H5/H7/H9 Indical)	DAQIOBM000069 rev,0 (Ricerca paramyxovirus aviario di tipo 1 (APMV1) con RT PCR e tipizzazione con sequenza genica)
L000544	PDP VIR 018 Rev, 10 - 10/25	PDP VIR 143 Rev, 04 – 07/24	Monne et al, 2008 Journal of Clinical Microbiology	Wise et al, 2004 Journal of Clinical Microbiology

Tabella S1 (continuazione). Metodi impiegati per lo schema AQUA IN-M.

Codice laboratorio	AIV (M/NP)	AIV-H5	AIV-H7	APMV-1
L000546	Avian Influenza Community Reference laboratory, detection of influenza A matrix gene by realtime Taqman RT-PCR, SOP VI 493 edition 14	Rilevazione virus euroasiatici dell'influenza aviaria sottotipo H5 mediante one step RT-PCR e sequenziamento Sanger (PdP VIR 143, rev, 02 – 02/19); Slomka M,J, et al.; 2007a, Identification of sensitive and specific avian influenza PCR methods through blind ring test trials in the European Union, Avian Diseases 51, 227-234,	Rilevazione virus euroasiatici dell'influenza aviaria sottotipo H7 mediante reverse transcriptase Real Time PCR (PdP VIR 144, rev, 02 – 02/19); Slomka M,J, et al.; 2007a, Identification of sensitive and specific avian influenza PCR methods through blind ring test trials in the European Union, Avian Diseases 51, 227-234; Van Borm S, et al.; rapid detection of Eurasian and American H7 subtype influenza A viruses using a single TaqManMGB real-time RT-PCR, Avian Diseases 2010, Mar;54 (1 suppl):632-8	Wise M,G, et al.; development of a Real-Time Reverse-Transcription PCR for Detection of Newcastle Disease Virus RNA in Clinical Samples, J, Clin, Microbiol, 2004, 42(1):329; IZS Ve N RL PDP VIR 151 Rev,03-05/22
L000548	Influenza A: MP09/032 - Real time one step (Spackman et al, 2002) (accreditato)	MP09/036 - RT-PCR (Slomka et al, 2007); MP09/038 real time RT-PCR PDP VIR 143	MP09/037- RT-PCR (Slomka et al, 2007); MP09/039 - real time RT-PCR PDP VIR 144; Detection of Eurasian H7 Avian influenza virus by real-time RT-PCR (Van Borm et al., 2010 modified) (Released on 07/04/21), IZSVe, SOP VIR 1001	1- MP 09/035 – real time RT-PCR NDV - PDP VIR 151 rev, 03 – 05/22 /accreditato); 2- RT-PCR NDV (Kho et al., 2000); 3- real time RT-PCR one step (Wise et al., 2004);
L000549	CdR: PDP VIR 018 Rev, 10-10/25	CdR: PDP VIR 143 Rev, 04 – 07/24	CdR: PDP VIR 144 Rev, 03 – 06/22; Van Borm et al., 2010	VetMax NDV Reagents (Applied Biosystems)
L000586	gene M(M64)-Mp 09/032 -One step RT-Real-Time PCR- rif, Slomka et al 2010	metodica -One step RT-Real-Time PCR - CdR: M,J, Slomka, 2007 doi: 10,1637/7664-060906R1,1 - Eseguita anche one step rt-PCR Slomka 2007- DOI: 10,1637/7674-063006R1,1	metodica -One step RT-Real-Time PCR - CdR: M,J, Slomka, 2007 doi: 10,1637/7664-060906R1,1 - Eseguita anche one step rt-PCR Slomka 2007- DOI: 10,1637/7674-063006R1,1	

Tabella S1 (continuazione). Metodi impiegati per lo schema AQUA IN-M.

Codice laboratorio	AIV (M/NP)	AIV-H5	AIV-H7	APMV-1
L000951	Heine et al, 2015	Slomka et al, 2007	Slomka et al, 2007	Wise et al, 2004
L000958	Real Time One Step Gene M , Spackman M, et al, 2002	rRT One Step H5 - H7 - H9 Monne I, et al, 2008	rRT One Step H5 - H7 - H9 Monne I, et al, 2008	Protocollo Real time PCR IZS Venezie - PDP VIR 151 Rev,02 - 06/20

I dati sono fedelmente riportati come presentati

Tabella S2. Valori di Ct per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)'.

Campione		Codice laboratorio												
ID	Tipo	L000342	L000348	L000356	L000358	L000390	L000399	L000411	L000438	L000452	L000455	L000469	L000503	L000544
M01§	APMV-1	/			>40	00,00		0				Undet		45
M02	H7N5	31,82	27,43	31,48	32	28,61	29,7	29,95	30,1	35,01	29,51	30,42	31	28,59
M03	H5N3	23,11	19,21	22,80	23,8	21,02	21,5	21,58	22,0	26,11	21,19	22,27	22	20,02
M04	H5N1	28,87	22,7	26,83	28	25,11	25,2	25,55	26,2	28,31	24,92	26,06	26	24,19
M05	APMV-1	/			>40	00,00		0				Undet		45
M06	Negativo	/			>40	00,00		0				Undet		45
M07	H7N8	23,01	20,31	23,6	24	21,03	21,7	22,09	22,4	27,47	21,14	22,37	23	21,10
M08§	APMV-1	/			>40	35,51		0				Undet		45
M09	APMV-1	/			>40	33,17		0				Undet		45
M10	H5N5	29,66	25,35	28,53	30,1	27,75	27,5	28,17	28,4	32,14	27,84	28,46	28	26,26
M11	Negativo	/			>40	00,00		0				Undet		45
M12	APMV-1	/			>40	00,00		0				Undet		45
M13	H9N3	28,72	25,23	27,91	29,1	27,22	28,0	27,44	27,7	31,35	27,52	27,70	28	25,68

Tabella S2 (continuazione). Valori di Ct per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene M/NP)'.

Campione		Codice laboratorio						No.*	Mediana	Min	Max	nIQR	rCV (%)	CRN (9)
ID	Tipo	L000546	L000548	L000549	L000586	L000951	L000958							
M01§	APMV-1		N	n,d,		>40	>40							
M02	H7N5	32,68	31,9	30,9	29,7	29,02	29,06	19	30,10	27,43	35,01	1,75	5,82	30,05
M03	H5N3	23,58	22,2	22,1	21,19	20,81	21,20	19	22,00	19,21	26,11	1,00	4,53	20,90
M04	H5N1	31,34	26	26,3	24,69	24,21	26,12	19	26,00	22,70	31,34	1,15	4,42	24,88
M05	APMV-1		N	n,d,		>40	>40							
M06	Negativo		N	n,d,		>40	>40							
M07	H7N8	24,37	24,1	23,2	22,47	21,14	21,95	19	22,40	20,31	27,47	1,47	6,55	21,13
M08§	APMV-1		N	n,d,		>40	>40	1		35,51	35,51			
M09	APMV-1		N	n,d,		>40	>40	1		33,17	33,17			
M10	H5N5	29,80	28,7	28,7	27,39	27,11	27,48	19	28,17	25,35	32,14	0,90	3,18	27,57
M11	Negativo		N	n,d,		>40	>40							
M12	APMV-1		N	n,d,		>40	>40							
M13	H9N3	29,08	27,9	27,9	26,88	26,31	26,81	19	27,70	25,23	31,35	0,70	2,54	26,75

I dati sono fedelmente riportati come presentati

nIQR = Range interquartile normalizzato, rCV = Coefficiente di variazione robusto, NA = Non applicabile

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

() Metodo di riferimento:

(9) IZSVe PDP VIR 018, rev. 10 (Heine et al., 2015)

Tabella S3. Valori di Ct per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H5'.

Campione		Codice laboratorio												
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000452	L000469	L000527	L000544	L000546	L000548	L000549	L000586	L000951	L000958
M01§	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M02	H7N5	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M03	H5N3	/	23,9	31,1	25,85	25,75	23,99	20,25	21,71	21,9	22,3	20,43	21,84	24,87
M04	H5N1	24,39	23,7	29,1	28,36	28,59	26,07	23,13	24,60	24,7	25,6	23,64	24,34	25,94
M05	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M06	Negativo	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M07	H7N8	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M08§	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M09	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M10	H5N5	29,54	29,0	33,5	32,26	32,88	30,53	27,18	29,22	29,7	29,8	28,19	28,57	27,91
M11	Negativo	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M12	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M13	H9N3	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40

Campione		No.*	Mediana	Min	Max	nIQR	rCV (%)	CRN	
ID	Tipo							(33)	(20)
M01§	APMV-1								
M02	H7N5								
M03	H5N3	12	23,10	20,25	31,10	2,43	10,53	Negativo	23,09
M04	H5N1	13	24,70	23,13	29,10	1,28	5,19	24,12	26,14
M05	APMV-1								
M06	Negativo								
M07	H7N8								
M08§	APMV-1								
M09	APMV-1								
M10	H5N5	13	29,54	27,18	33,50	1,45	4,92	28,68	29,76
M11	Negativo								
M12	APMV-1								
M13	H9N3								

Legenda alla Tabella S3

I dati sono fedelmente riportati come presentati

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

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

() Metodo di riferimento:

(20) IZSVe PDP VIR 143, rev. 04 (Slomka et al., 2007)

(33) IZSVe PDP VIR 1004, rev. 00 (Hassan et al., 2022)

Tabella S4. Valori di Ct per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7'.

Campione		Codice laboratorio												
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000452	L000469	L000527	L000544	L000546	L000548	L000549	L000586	L000951	L000958
M01§	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M02	H7N5	35,32	29,0	36,3	35,20	35,38	30,93	34,89	35,27	31,3	30	34,03	30,28	30,02
M03	H5N3	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M04	H5N1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M05	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M06	Negativo	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M07	H7N8	23,68	21,0	28,9	25,31	29,07	22,36	25,30	26,64	23,55	21,8	32,19	21,97	22,74
M08§	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M09	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M10	H5N5	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M11	Negativo	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M12	APMV-1	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40
M13	H9N3	/				Undet		45		N	n,d,		>40	>40

Tabella S4 (continuazione). Valori di Ct per il misurando 'Virus dell'influenza aviaria (gene HA) - Identificazione del sottotipo H7'.

Campione		No.*	Mediana	Min	Max	nIQR	rCV (%)	CRN (33)
ID	Tipo							
M01§	APMV-1							
M02	H7N5	13	34,03	29,00	36,30	3,70	10,87	32,00
M03	H5N3							
M04	H5N1							
M05	APMV-1							
M06	Negativo							
M07	H7N8	13	23,68	21,00	32,19	3,17	13,40	22,23
M08§	APMV-1							
M09	APMV-1							
M10	H5N5							
M11	Negativo							
M12	APMV-1							
M13	H9N3							

I dati sono fedelmente riportati come presentati

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

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

() Metodo di riferimento:

(33) IZSVe PDP VIR 1004, rev. 00 (Hassan et al., 2022)

Tabella S5. Valori di Ct per il misurando 'Paramyxovirus aviario di tipo 1'.

Campione		Codice laboratorio												No.*
ID	Tipo	L000399	L000411	L000438	L000452	L000469	L000526	L000544	L000546	L000548	L000549	L000951	L000958	
M01§	APMV-1	25,0	23,27	26,6	26,17	25,63	22,35	20,96	25,24	26,9	21,8	25,30	25,64	12
M02	H7N5		0			Undet	>40	45		N	n,d,	>40	>40	
M03	H5N3		0			Undet	>40	45		N	n,d,	>40	>40	
M04	H5N1		0			Undet	>40	45		N	n,d,	>40	>40	
M05	APMV-1	26,6	0		28,15	Undet	24,96	23,38	26,75	27,4	24,3	25,30	>40	8
M06	Negativo		0			Undet	>40	45		N	n,d,	>40	>40	
M07	H7N8		0			Undet	>40	45		N	n,d,	>40	>40	
M08§	APMV-1	33,3	29,54	32,7	32,79	30,85	29,13	27,93	31,98	32,8	28,8	31,43	31,87	12
M09	APMV-1	28,7	27,89	31,1	29,49	27,99	25,91	24,45	28,68	29,7	25,6	28,92	28,30	12
M10	H5N5		0			Undet	>40	45		N	n,d,	>40	>40	
M11	Negativo		0			Undet	>40	45		N	n,d,	>40	>40	
M12	APMV-1	32,8	28,73	32,5	32,16	29,79	30,64	32,05	31,07	32,7	n,d,	37,60	31,80	11
M13	H9N3		0			Undet	>40	45		N	n,d,	>40	>40	

Campione		Mediana	Min	Max	nIQR	rCV (%)	CRN (14)
ID	Tipo						
M01§	APMV-1	25,27	20,96	26,90	2,03	8,02	20,12
M02	H7N5						
M03	H5N3						
M04	H5N1						
M05	APMV-1	25,95	23,38	28,15	1,57	6,05	Negativo
M06	Negativo						
M07	H7N8						
M08§	APMV-1	31,65	27,93	33,30	2,44	7,69	26,90
M09	APMV-1	28,49	24,45	31,10	1,24	4,34	23,75
M10	H5N5						
M11	Negativo						
M12	APMV-1	32,05	28,73	37,60	1,29	4,04	25,59
M13	H9N3						

Legenda alla Tabella S5

I dati sono fedelmente riportati come presentati

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

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

() Metodo di riferimento:

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

Tabella S6. Risultati da test aggiuntivi e commenti.

Campione		Codice laboratorio					
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000452	L000469	L000526
M01§	APMV-1				kit GENOVO, Kit Life CT: 24,90		Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M02	H7N5						Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M03	H5N3	positivo H5 con PDP VIR 143 (Ct 26,56)					Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M04	H5N1						Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M05	APMV-1		Positivo con metodo Wise et al 2004		kit GENOVO, Kit Life CT: 26,75		Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M06	Negativo						Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M07	H7N8						Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M08§	APMV-1				kit GENOVO, Kit Life CT: 31,41		Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M09	APMV-1						Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M10	H5N5						Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M11	Negativo						Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M12	APMV-1				kit GENOVO, Kit Life CT: 37,07		Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem
M13	H9N3	H9 positivo PDP VIR 014 (Ct 25,76)	AIV-H9 Ct 25,5 PDP VIR 014 rev 05 - 01/23	AIV-H9	AIV-H9 Indical CT 30,37	AIV-H9	Campioni estratti con due differenti metodi: 1) QIAamp® Viral RNA Mini Kit - QIAGEN; 2) MagMax CORE Nucleic Acid Purification Kit-Applied Biosystem

Tabella S6 (continuazione). Risultati da test aggiuntivi e commenti.

Campione		Codice laboratorio						
ID	Tipo	L000527	L000544	L000546	L000548	L000549	L000951	L000958
M01§	APMV-1	DAQIOBM0000 48 AIV NEG				PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22: LProMG Ct 24,2 LProMGB2 Ct 24,1B		
M02	H7N5	DAQIOBM0000 48 AIV POS				PDP VIR 144 Ct 36,4 - Van Borm et al., 2010 Ct 30; PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO		
M03	H5N3	DAQIOBM0000 48 AIV POS				PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO		
M04	H5N1	DAQIOBM0000 48 AIV POS				PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO		
M05	APMV-1	DAQIOBM0000 48 AIV NEG	negativo con PDP VIR 151	Positivo mediante metodo pubblicato da Wise M,G, et al,	P con metodiche 2 e 3, N con metodica 1	PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO		
M06	Negativo	DAQIOBM0000 48 AIV NEG				PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO		
M07	H7N8	DAQIOBM0000 48 AIV POS	negativo con PDP VIR 144	Positivo mediante metodo end point pubblicato da Slomka et al, e con metodo Real-Time pubblicato da Van Borm et al.		PDP VIR 144 NEGATIVO - Van Borm et al., 2010 Ct 21,8 ; PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO		
M08§	APMV-1	DAQIOBM0000 48 AIV NEG				PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22: LProMG Ct 32,2 LProMGB2 Ct 32,8		
M09	APMV-1	DAQIOBM0000 48 AIV NEG				PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22: LProMG Ct 28,7 LProMGB2 Ct 29,3		
M10	H5N5	DAQIOBM0000 48 AIV POS				DP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO		
M11	Negativo	DAQIOBM0000 48 AIV NEG				DP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO		
M12	APMV-1	DAQIOBM0000 48 AIV NEG				PDP VIR 151 Rev, 03 – 05/22: LProMG Ct 31,3 LProMGB2 Ct 29,5		
M13	H9N3	DAQIOBM0000 48 AIV POS	AIV H9, ct 28,35 Monne et al 2008 J,of Clinic, Microbiology		H9	AIV H9, DP VIR 151 Rev, 03 – 05/22 NEGATIVO	Positivo per AIV H9	AIV-H9

Schema AQUA IN-V

Tabella S7. Titoli HA.

Campione		Codice laboratorio									No.*	Titolo HA (valore modale)	
ID	Tipo	L000399	L000438	L000469	L000526	L000544	L000546	L000548	L000549	L000951		Partecipanti	CRN
V01	H5N1	1:128	1:256	1:512	1:256	1:256	1:256	1:256	1:128	1:256	9	1:256	1:256
V02	APMV-1	1:256	1:128	1:2048	1:256	1:1024	1:1024	1:512	1:256	1:1024	9	1:256/1:1024	1:512
V03	H5N6	1:128	1:512	1:256	1:128	1:256	1:256	1:128	1:64	1:256	9	1:256	1:128
V04	H7N7	1:128	1:256	1:512	1:128	1:256	1:128	1:128	1:128	1:256	9	1:128	1:128
V05	H5N5	1:64	1:512	1:256	1:128	1:256	1:128	1:128	1:128	1:256	9	1:128	1:128
V06	H9N2	1:64	1:512	1:128	1:64	1:128	1:64	1:64	1:128	1:128	9	1:64/1:128	1:128
V07	Negativo	negativo		Negativo	NEG	negativo	negativo	NEG	Negativo	NEGATIVO	9		
V08	Negativo	negativo		Negativo	NEG	negativo	negativo	NEG	Negativo	NEGATIVO	9		
V09	Negativo	negativo		Negativo	NEG	negativo	negativo	NEG	Negativo	NEGATIVO	9		
V10	H7N7	1:64	1:1024	1:512	1:64	1:128	1:256	1:128	1:128	1:128	9	1:128	1:64
V11	APMV-1	1:64	1:16	1:256	1:64	1:64	1:128	1:64	1:128	1:128	9	1:64	1:64
V12	APMV-1	1:256	1:256	1:1024	1:256	1:2048	1:1024	1:512	1:512	1:1024	9	1:256/1:1024	1:512

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

Tabella S8. Risultati da test aggiuntivi.

ID	Tipo	L000399	L000544	L000548	L000951
V06	H9N2	AIV H9	AIV H9	AIV H9	NON H5, H7 (AIV H9)

Tabella S9. Risultati dei test HI eseguiti dal CRN.

SIERO				CAMPIONE								
				V01 H5N1 HPAI	V02 APMV1 Avirulento	V03 H5N6 LPAI	V04 H7N7 LPAI	V05 H5N5 HPAI	V06 H9N2 LPAI	V10 H7N7 LPAI	V11 APMV1 Virulento	V12 APMV1 Virulento
Antigene immunogeno	Tipo	Patotipo	Titolo [^]									
A/chicken/Scotland/1/59	H5N1	HPAI	1:512	1:64	N	1:512	N	1:16	N	N	N	N
A/turkey/Italy/21VIR9520-3/2021	H5N1	HPAI	1:512	1:512	N	1:32	N	1:256	1:2	N	N	N
A/teal/England/7394-2805/06	H5N3	LPAI	1:512	1:16	N	1:1024	N	1:16	1:2	N	N	N
A/African starling/England/983/79	H7N1	LPAI	1:512	1:16	N	N	1:512	N	N	1:1024	N	N
A/turkey/England/647/77	H7N7	LPAI	1:512	N	N	N	1:512	N	N	1:2048	N	N
A/mallard/Italy/3817-34/05	H9N2	LPAI	1:512	N	N	N	N	N	1:512	N	N	N
APMV-1 Ulster 2C	APMV1	Avirulento	1:256	N	1:256	N	N	N	N	N	1:64	1:512
APMV-1/dove/Italy/4400/2000	APMV1	Virulento	1:256	N	1:64	N	N	N	N	N	1:128	1:64

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

Schema AQUA IN-S

Tabella S10. Kit Elisa usati.

Codice Laboratorio	Kit
CRN	ID.Vet - ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-Species
L000342	ID SCREEN®INFLUENZA A ANTIBODY COMPETITION MULTI-SPECIES (IDVet) LOTTO Q43
L000399	ID,Vet
L000438	ID,VET ID SCREEN INFLUENZA A ANTIBODY COMPETITION MULTI-SPECIES
L000526	Influenza A Virus Antibody Test Kit - IDEXX
L000544	Ingezim Influenza A lotto 240250 exp, 08-2026 - Gold Standard
L000548	Influenza tipo A (anticorpi), Elisa competitiva MP 04/039 (accreditato)
L000549	ID Screen Influenza A Antibody Competition Multi-Species, IDvet
L000550	ID screen influenza A Antibody Competition Multi -species IDVET
L000551	KIT ELISA "INGEZIM Influenza A"- Lotto 240250 scad, 08/2026
L000948	ID Screen Influenza A Antibody Competition - Multispecies
L000951	FLUACA ID SCREEN Influenza A antibody competition
L000955	ID,VET - ID Screen Influenza A Antibody Competition Multi-species

Tabella S11. Titoli HI.

Campione		Codice laboratorio						
ID	Tipo	L000342	L000399	L000438	L000526	L000544	L000546	L000548
S01	H5N5	1:128	1:256	1:2048	1:128	1:128	1:512	1:256
S02	H9N2							
S03§	APMV-1		1:256	1:512	1:256	1:512	1:128	1:256
S04	Negativo							
S05	H7N3	1:128	1:512	1:512	1:256	1:512	1:128	1:256
S06	APMV-1		1:256	1:512	1:512	1:512	1:128	1:256
S07	APMV-1		1:32	1:64	1:32	1:32	1:16	1:16
S08§	H5N1	1:128	1:64	1:64	1:128	1:128	1:128	1:64
S09§	H5N1	1:1024	1:512	1:512	1:1024	1:1024	1:256	1:512
S10	Negativo							
S11§	APMV-1		1:64	1:128	1:64	1:64	1:32	1:32
S12	H7N1	1:256 (H5) 1:32(H7)	1:256	1:256	1:64	1:256	1:64	1:128

Campione		Codice laboratorio					No.**	Titolo HI*
ID	Tipo	L000549	L000550	L000551	L000951	L000955		
S01	H5N5	1:32	1:1024	1:64	1:512	1:64	12	1:128
S02	H9N2							
S03§	APMV-1	1:128	1:512		1:512	1:128	10	1:512
S04	Negativo							
S05	H7N3	1:256	1:512	1:256	1:128	1:512	12	1:512
S06	APMV-1	1:128			1:256	1:256	9	1:256
S07	APMV-1	1:16	1:64		1:32	1:32	10	1:32
S08§	H5N1	1:64	1:64	1:128	1:32	1:128	12	1:128
S09§	H5N1	1:256	1:512	1:2048	1:256	1:512	12	1:512
S10	Negativo							
S11§	APMV-1	1:16	1:128		1:64	1:64	10	1:64
S12	H7N1	1:64	1:256	1:512 (H5) 1:32 (H7)	1:32	1:256	14	1:256

§ Le coppie di campioni S03 e S12 e S08 e S09 sono costituite dallo stesso siero preparato a diverse diluizioni

* Valore modale dei titoli HI ottenuti dai laboratori partecipanti e calcolato sui valori $\geq 1:8$

** Numero di valori $\geq 1:8$

Tabella S12. Risultati dei test HI eseguiti dal CRN.

Antigene emoagglutinante	HAU	Cut-off [^]	Campione												
			S01	S02	S03§	S04	S05	S06	S07	S08§	S09§	S10	S11§	S12	
			H5N5	H9N2	APMV1	N	H7N3	APMV1	APMV1	H5N1	H5N1	N	APMV1	H7N1	
H5N1 A/chicken/Scotland/1/59	4	≥1:16	1:256	1:4	N	N	N	N	N	1:256	1:1024	N	N	1:16	
H5N1 A/turkey/Italy/21VIR9520-3/2021			1:1024	N	N	N	N	N	N	N	1:32	1:128	N	N	1:32
H5N3 A/teal/England/7394-2805/06			1:64	N	N	N	1:16	N	N	N	1:64	1:512	N	N	N
H5N5 A/wigeon/Italy/16VIR9616-3/2016			1:1024	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1:16	1:64	NT	NT	NT
H7N1 A/African starling/England/983/79			N	N	N	N	1:512	N	N	N	1:2	1:8	N	N	1:256
H7N7 A/turkey/England/647/77			N	N	N	N	1:256	N	N	N	N	N	N	N	1:64
H9N2 A/mallard/Italy/3817-34/05			N	1:512	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Ulster 2C			N	N	1:256	N	N	1:512	1:32	N	N	N	1:64	N	N
APMV-1/dove/Italy/4400/2000			N	N	1:64	N	N	1:128	1:64	N	N	N	1:32	N	N

HAU = Unità emoagglutinante, N = Negativo, NT = Non testato

[^] Valore cut-off di positività nel test HI

§ Le coppie di campioni S03 e S12 e S08 e S09 sono costituite dallo stesso siero preparato a diverse diluizioni

Tabella S13. Risultati da test aggiuntivi.

Campione		Codice laboratorio						L000948	L000951	L000955
ID	Tipo	L000399	L000544	L000548	L000550					
S01	H5N5					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	negativo NDV-ELISA			
S02	H9N2	positivo H9 (1:256)	positivo H9 1:256	H9		ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	negativo NDV-ELISA	POSITIVO H9 (1:256)	pos, AIV H9	
S03§	APMV-1					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	positivo NDV-ELISA			
S04	Negativo					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	negativo NDV-ELISA			
S05	H7N3					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	negativo NDV-ELISA			
S06	APMV-1				NDV 1:512	ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	positivo NDV-ELISA			
S07	APMV-1					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	positivo NDV-ELISA			
S08§	H5N1					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	negativo NDV-ELISA			
S09§	H5N1					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	negativo NDV-ELISA			
S10	Negativo					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	negativo NDV-ELISA			
S11§	APMV-1					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	positivo NDV-ELISA			
S12	H7N1					ANTIGENI USATI PER HAI: H5N1 Lotto 3/16 scad.,: 04/2026, H7N3 Lotto 1/22 scad.,: 10/2027	negativo NDV-ELISA	POSITIVO H7 (1:32)		

§ Le coppie di campioni S03 e S12 e S08 e S09 sono costituite dallo stesso siero preparato a diverse diluizioni

----- Fine report finale -----