

ID Fascicolo

Codifica Fascicolo Validazione: VIR 1004V Rev. 02
Dichiarazione del/i laboratorio/i: EURL/LRN AI e ND e Laboratori PD/VR

Metodo di prova

PDP VIR 1004 Rev.^(*) 00

Titolo:

Determinazione del sottotipo HA e NA del virus dell'influenza aviaria mediante real-time RT-PCR (Hassan et al., 2022; James et al., 2018; Hoffmann et al., 2016)

Metodo:

PDP VIR 1004 2024 Rev. 00

Campo di applicazione (matrice/specie) e di misura (ove applicabile) della PDP:

isolati virali, organi/tessuti, feci e tamponi da specie aviarie e di mammifero, latte di origine animale, tamponi nasali/faringei umani, RNA/DNA estratto dalle suddette matrici

Matrici utilizzate per la validazione/verifica della PDP:

- PBSa
- PBS
- PrimeStore MTM
- isolati virali
- omogenato di organi/tessuti (cavità coanali, cervello, polmone, trachea, milza, fegato, pancreas, rene, intestino, tonsille cecali, vescica)
- sospensione di feci
- stemperato di tamponi animali di specie aviarie e di mammifero (cloacali, orofaringei, tracheali, palatino)
- liquido di trasporto di tamponi nasali e nasofaringei umani
- latte di massa e latte mastitico bovino

^(*)dichiarazione valida anche per eventuali successive revisioni della PDP, purché queste non implicino una rivalidazione/riverifica del metodo

Caratteristiche del metodo validate/verificate presso IZSVE

Procedura di validazione/verifica del SGQ IZSVE utilizzata: IZS IDD 015

Parametro*	Valore/limite di accettabilità	Riferimento**	Risultati ottenuti Target tutti NA-HA (eccetto H5-H7)	
Ripetibilità	≥ 95% concordanza	IZS IDD 015	PBSa	Target NA: - within run ≥ 95,26% - between days ≥ 96,96% Target HA: - within run ≥ 96,30% - between days ≥ 95,82%
Specificità analitica	100% inclusività 100% esclusività	IZSVE	100% inclusività 100% esclusività	
Sensibilità analitica	Limite non previsto	IZSVE	LoD in PBSa	Target NA: 10 ^{-0,04} - 10 ^{3,19} GC/μl RNA, in funzione del ceppo Target HA: 10 ^{-1,81} - 10 ^{4,34} GC/μl RNA, in funzione del ceppo

Sensibilità diagnostica	Limite non previsto	IZSve	Tra 68,9% e 100% in base al target ricercato
Riproducibilità inter-laboratorio (Proficiency Test - PT)	K di Cohen $K \geq 0.61$	IZS IDD 015	EURL/LRN AI e ND $K=1$ (PT 2023-2025)

[*: ove necessario specificare il parametro per matrice / specie animale;

**]: indicare il documento che contiene le caratteristiche prestazionali del metodo; indicare "IZSve" quando il criterio è definito dal laboratorio]

Procedura di validazione/verifica del SGQ IZSve utilizzata: IZS IDD 015			
Parametro*	Valore/limite di accettabilità	Riferimento**	Risultati ottenuti Target H5
Ripetibilità	$\geq 95\%$ concordanza	IZS IDD 015	Stemperato di tampone tracheale di specie aviarie - within run $\geq 95,15\%$ - between days $\geq 96,29\%$
			Liquido di trasporto di tampone nasale umano - within run $\geq 98,77\%$ - between days $\geq 98,67\%$
			Latte di massa bovino diluito in PrimeStore MTM o PBS - within run $\geq 97,05\%$ - between days $\geq 97,36\%$
			Latte mastitico bovino diluito in PrimeStore MTM o PBS - within run $\geq 96,36\%$ - between days $\geq 96,21\%$
Specificità analitica	100% inclusività 100% esclusività	IZSve	100% inclusività 100% esclusività
Sensibilità analitica	Limite non previsto	IZSve	LoD in PBSa $10^{1,5}$ EID ₅₀ /100 μ l e $10^{0,41}$ GC/ μ l RNA, in funzione del ceppo
			LoD in stemperato di tampone tracheale di specie aviarie $10^{0,85}$ - 10^1 EID ₅₀ /100 μ l, in funzione del ceppo
			LoD in liquido di trasporto di tampone nasale umano 10^1 EID ₅₀ /100 μ l
			LoD in latte di massa bovino diluito in PrimeStore MTM o PBS $10^{1,4}$ EID ₅₀ /100 μ l
			LoD in latte mastitico bovino diluito in PrimeStore MTM o PBS $10^{1,4}$ EID ₅₀ /100 μ l
Sensibilità diagnostica	$> 95\%$	IZSve	99,51% rispetto allo stato infettivo noto/ confronto con altro metodo

Specificità diagnostica	> 95%	IZSVe	100% rispetto allo stato infettivo noto/confronto con altro metodo
Riproducibilità inter-laboratorio (Proficiency Test - PT)	K di Cohen $K \geq 0.61$	IZS IDD 015	EUURL/LRN AI e ND $K = 1$ (PT 2023-2025) PD/VR $K = 1$ (PT 2025)
Riproducibilità intra-laboratorio (Laboratori PD-VR)	K di Cohen $K \geq 0.61$	IZS IDD 015	$K = 1$

[*: ove necessario specificare il parametro per matrice / specie animale;

**.: indicare il documento che contiene le caratteristiche prestazionali del metodo; indicare "IZSVe" quando il criterio è definito dal laboratorio]

Procedura di validazione/verifica del SGQ IZSVe utilizzata: IZS IDD 015

Parametro*	Valore/limite di accettabilità	Riferimento**	Risultati ottenuti Target H7	
Ripetibilità	> 95% concordanza	IZS IDD 015	Omogenato di organi/tessuti di specie aviari	-within run $\geq 95,38\%$ -between days $\geq 95,01\%$
Specificità analitica	100% inclusività 100% esclusività	IZSVe	100% inclusività 100% esclusività	
Sensibilità analitica	Limite non previsto	IZSVe	LoD in PBSa LoD in omogenato di organi/tessuti di specie aviarie	$10^{0,48}$ GC/ μ l RNA $10^{1,70}$ - $10^{2,48}$ EID ₅₀ /100 μ l, in funzione del ceppo
Sensibilità diagnostica	> 95%	IZSVe	100% rispetto allo stato infettivo noto/ confronto con altro metodo	
Specificità diagnostica	> 95%	IZSVe	100% rispetto allo stato infettivo noto /confronto con altro metodo	
Riproducibilità inter-laboratorio (Proficiency Test - PT)	K di Cohen $K \geq 0.61$	IZS IDD 015	EUURL/LRN AI e ND $K=1$ (PT 2023-2025) PD/VR $K = 1$ (PT 2025)	
Riproducibilità intra-laboratorio (Laboratori PD-VR)	K di Cohen $K \geq 0.61$	IZS IDD 015	$K = 1$	

[*: ove necessario specificare il parametro per matrice / specie animale;

**.: indicare il documento che contiene le caratteristiche prestazionali del metodo; indicare "IZSVe" quando il criterio è definito dal laboratorio]

Dichiarazione di validità del metodo di prova

<p>Sulla base dei risultati ottenuti dalle prove di validazione / verifica delle prestazioni</p> <p>si dichiara</p> <p>il metodo risulta idoneo all'utilizzo previsto.</p>

Frequenza del riesame periodico:

- annuale, in occasione del riesame della Direzione (fatti salvi i casi di estensioni o modifiche sostanziali al metodo di prova, introduzione nuove apparecchiature, non conformità dei dati di assicurazione qualità)

altro (specificare): a conclusione dei PT in programma per i Laboratori e/o in occasione del riesame della
Direzione

Data emissione dichiarazione: 15/09/2025

Nominativo e firma Responsabile Progetto Dott.ssa Valentina Maria Panzarin



Nominativo e firma DSC Dott. Calogero Terregino

