



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

RING TEST NAZIONALE PER LA RICERCA DI ANTICORPI NEI CONFRONTI DEL VIRUS DELLA MALATTIA DI AUJESZKY MEDIANTE TECNICA ELISA

Anno 2022-2023

REPORT FINALE (R1)

**Questo report sostituisce il report finale inviato per mail in
data 10-05-23**

CRMA

Centro di Referenza Nazionale della Malattia di Aujeszky-Pseudorabbia

IZSLER, Reparto di Virologia - Brescia
Responsabile dott.ssa Ana Moreno
Tel. 0039 030 2290347
e-mail anamaria.morenomartin@izsler.it



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Premessa

Con il DM 8.5.02 il Ministero della Sanità conferisce all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER), sede centrale di Brescia, la funzione di Centro di Referenza Nazionale per la Malattia di Aujeszky (CRMA). La Decisione della Commissione 93/244/CEE (poi abrogata e sostituita dalla Decisione della Commissione 2001/618/CE e successive modifiche) affida all'Istituto anche il compito di valutare sistemi diagnostici (Kit ELISA gE) utilizzati in Italia per gli animali oggetto di scambi intercomunitari. I compiti istituzionali del CRMA sono quelli definiti nel DM 4.10.99, art. 2; tra questi compiti vi è anche quello di organizzare circuiti inter laboratorio, o ring test, a livello nazionale. La partecipazione al circuito inter laboratorio e l'adozione di eventuali misure correttive, qualora emergano criticità, consente ai laboratori di mantenersi coerenti con gli standard qualitativi richiesti.

A diversi laboratori che hanno aderito al Ring Test 2022-23, è stato inviato un identico pannello di 20 sieri; i dati ottenuti dai singoli laboratori sono stati trasmessi alla Sorveglianza Epidemiologica Lombardia che ha provveduto ad aggregarli ed analizzarli.

Partecipanti

In totale hanno aderito al Ring Test 23 laboratori dislocati su tutto il territorio nazionale (Tabella 1), ad ognuno dei quali è stato assegnato un numero identificativo casuale che rimarrà lo stesso per i successivi ring test.

Tabella 1 - Elenco dei laboratori che hanno aderito al Ring Test 2022-23

IZS Piemonte, Liguria, Valle d'Aosta	Sede centrale di Torino - S.C. virologia
IZS Lombardia, Emilia Romagna	Sezione di Cremona
	Sezione di Lodi
	Sezione di Mantova
	Sezione di Parma
IZS Venezia	Sezione di Reggio Emilia
	Sede centrale di Padova – Sierologia e malattie pianificate
	Sezione di Treviso
IZS Lazio, Toscana	Sezione di Udine
	Sede centrale di Roma - D.O. malattie virali e leptospirosi
IZS Umbria, Marche	Sede centrale di Perugia



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

	Sezione di Fermo
IZS Abruzzo, Molise	Sede centrale di Teramo - Laboratorio di Sierologia
	Sezione di Avezzano
IZS Mezzogiorno	Sede centrale di Portici, U.O.S. Diagnostica Virologica
	Sezione di Catanzaro - Lab. sierologia
	Sezione di Cosenza
IZS Puglia, Basilicata	Sede centrale di Foggia – U.O. Virologia
IZS Sicilia	Sede centrale di Palermo – Laboratorio diagnostica Virologica
IZS Sardegna	Sede centrale di Sassari
	Sezione di Cagliari
	Sezione di Oristano
	Sezione di Nuoro

Riservatezza

Il CRMA è impegnato a trattare i dati in forma confidenziale e riservata. I dati una volta aggregati potranno essere messi a disposizione del Ministero della Salute, dei Servizi Veterinari Regionali o di altri Uffici di Istituzioni competenti.

Sieri utilizzati per il Ring Test della Malattia di Aujeszky 2022-23 e risultati attesi

Il pannello dei campioni è costituito da 20 sieri di suini testati per la ricerca di anticorpi gE (anti-gE) e gB (anti-gB), identificati con numeri progressivi da 1 a 20. I risultati ottenuti dai laboratori partecipanti, sono stati espressi in termini qualitativi sulla base dei valori di cut-off indicati dalle diverse ditte produttrici: positivi (P), negativi (N) e, se previsto, dubbi (D). In particolare, quando il valore del siero testato nel laboratorio partecipante è risultato "dubbio" e il valore atteso "positivo", il risultato si considera concordante, quando invece il siero è risultato "dubbio" ma il valore atteso è "negativo", il risultato viene considerato discordante.

Descrizione dei sieri utilizzati nel pannello

Siero 1- suino SPF vaccinato per tre volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio, prelevato 30 giorni dopo la terza vaccinazione;



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Siero 2- suino vaccinato 3 volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per contatto con ceppo ADV75D19 e prelevato 15 gg PC;

Siero 3- siero negativo ottenuto da suino SPF;

Siero 4 - suino vaccinato 1 volta un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato dopo 30 gg con il ceppo 252504/BS/05 e prelevato 24gg PI;

Siero 5- suino vaccinato per tre volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio, prelevato 30 giorni dopo la terza vaccinazione;

Siero 6- suino infettato per via endonasale con il ceppo ADV75D19 e prelevato 15 gg PI;

Siero 7- suino vaccinato 1 volta un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato dopo 30 gg con il ceppo 252504/BS/05 e prelevato 24gg PI;

Siero 8- siero negativo ottenuto da suino SPF;

Siero 9- suino vaccinato 1 volta un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato dopo 30 gg con il ceppo 252504/BS/05 e prelevato 24gg PI;

Siero 10- suino vaccinato 3 volte con vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per contatto con ceppo ADV75D19 e prelevato 15 gg PC;

Siero 11- suino vaccinato per tre volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio, prelevato 30 giorni dopo la terza vaccinazione;

Siero 12- suino SPF vaccinato per tre volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio, prelevato 30 giorni dopo la terza vaccinazione;

Siero 13- siero negativo ottenuto da suino SPF;

Siero 14- suino vaccinato 3 volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per contatto con ceppo ADV75D19 e prelevato 15 gg PC;

Siero 15- suino infettato sperimentalmente per via endonasale con ceppo ADV75D19 e prelevato 10 gg PI;

Siero 16- suino vaccinato 1 volta un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato dopo 30 gg con il ceppo 252504/BS/05 e prelevato 25gg PI, diluito 1/10 in siero negativo;

Siero 17- siero negativo ottenuto da suino SPF;

Siero 18- siero negativo ottenuto da suino SPF;



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Siero 19- suino infettato per via endonasale con il ceppo ADV75D19 e prelevato 15 gg PI;

Siero 20- suino vaccinato 3 volte con vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per contatto con ceppo ADV75D19 e prelevato 15 gg PC;

Risultati attesi

Tabella 2 - Sieri utilizzati nel pannello e risultato atteso in ELISA per ricerca anticorpi anti-gE e anti-gB

N. siero	Anti-gB	Anti-gE
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Positivo
3	Negativo	Negativo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo
8	Negativo	Negativo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo
11	Positivo	Negativo
12	Positivo	Negativo
13	Negativo	Negativo
14	Positivo	Positivo
15	Positivo	Positivo
16	Positivo	Positivo
17	Negativo	Negativo
18	Negativo	Negativo
19	Positivo	Positivo
20	Positivo	Positivo

Kit ELISA utilizzati dai laboratori partecipanti



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Sono stati utilizzati diversi kit ELISA e/o diversi lotti dello stesso kit. Nello specifico, per quanto riguarda i diversi kit sono stati utilizzati:

KIT 1-gB: IDEXX - Pseudorabies Virus gB Antibody Test Kit. HerdChek Anti-PRV gB

KIT 2-gB: IZSLER- Malattia di Aujeszky gB: anticorpi – Elisa competitiva (kit IZS-BS) con titolo

KIT 3-gB: ID-VET- ID Screen® Aujeszky gB Competition

KIT 1-gE: IDEXX - Pseudorabies Virus gpl Antibody Test Kit. HerdChek Anti-PRV gpl

KIT 2-gE: IZSLER- Malattia di Aujeszky gE: anticorpi – Elisa competitiva (kit IZS-BS)

KIT 3-gE: ID-VET- ID Screen® Aujeszky gE Competition

Analisi statistica

Il grado di accordo dei risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti al ring test è stato calcolato mediante due indici di concordanza: l'indice **K di Fleiss** (Fleiss JL, 1971) che misura il grado di concordanza tra laboratori a livello generale e l'indice **K di Cohen** (Cohen J, 1960) per ogni laboratorio, per misurare la concordanza tra il risultato espresso dal laboratorio ed il risultato atteso (del centro di riferimento). L'interpretazione dei test è stata effettuata seguendo il metodo proposto da Landis e Koch (1977) (Tabella 3). Infine, per ottenere una valutazione complessiva del circuito inter-laboratorio è stato calcolato un indice K di Cohen "globale" per confrontare il numero di campioni positivi e negativi ottenuti da tutti i laboratori con i risultati attesi. Il raggruppamento di tutti i risultati ottenuti dai diversi laboratori in un unico insieme è stato possibile solo in seguito alla conferma dell'ipotesi di non-eterogeneità tra i laboratori partecipanti. Da un punto di vista statistico, tale omogeneità può essere verificata tramite il test Chi-quadrato (o il test esatto di Fisher nel caso di basse frequenze) il quale testa l'ipotesi che il numero di esiti Positivi/Negativi sia uguale tra laboratori (Agresti, 2007).



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Tabella 3: interpretazione degli indici K di Cohen e K di Fleiss secondo Landis e Koch

K score	Interpretazione
<0	Nessun accordo
[0.0-0.20]	Accordo scarso
[0.21-0.40]	Accordo debole
[0.41-0.60]	Accordo moderato
[0.61-0.80]	Accordo considerevole
[0.81-1.0]	Accordo perfetto

Risultati

Tutti i 23 laboratori hanno partecipato al ring test per la ricerca di anticorpi gE mentre 14 hanno eseguito anche la prova per ricerca anticorpi gB.

Per la ricerca di anticorpi gE, 7 laboratori hanno utilizzato il KIT 1-gE, 5 il KIT 2-gE e 11 il KIT 3-gE; per quanto riguarda la ricerca di anticorpi gB, 6 laboratori hanno utilizzato il KIT 1-gB, 5 il KIT 2-gB e 3 il KIT 3-gB.

Nelle tabelle 4 e 5 sono riportati gli esiti inseriti dai singoli laboratori partecipanti al ring test per anticorpi gE e gB. Nella tabella 6 sono riportati tutti i risultati dell'analisi statistica, in particolare la concordanza tra gli esiti calcolata attraverso l'indice K di Cohen e l'indice K di Fleiss, l'accuratezza e il test per l'omogeneità degli esiti.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Tabella 4: risultati relativi al test ELISA per la ricerca degli anticorpi gE suddivisi per laboratorio con l'indicazione del kit di utilizzo.

N. campione	Esiti attesi	Numero Laboratorio																						
		L025	L097	L120	L176	L195	L230	L303	L319	L386	L403	L444	L500	L510	L550	L598	L606	L610	L634	L733	L821	L870	L973	L994
1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
2	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
4	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
5	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
6	P	P	P	P	P	D	P	P	P	P	P	P	D	P	P	P	D	P	P	P	P	D	D	
7	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
9	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
10	P	P	P	P	N	N	P	P	P	P	P	P	N	P	P	P	N	P	D	P	P	N	N	D
11	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
12	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
13	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
14	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	D	P	P	P	P	P	D	P
15	P	P	P	P	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	N	P	D	P	P	N	N	P
16	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	D	P	P	P	P	P	P
17	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
18	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
19	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	D	P	P	P	P	D	D	P
20	P	P	P	P	P	D	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	D	D	P
KIT N.		KIT1-gE	KIT3-gE	KIT2-gE	KIT3-gE	KIT3-gE	KIT2-gE	KIT1-gE	KIT2-gE	KIT1-gE	KIT2-gE	KIT1-gE	KIT3-gE	KIT3-gE	KIT1-gE	KIT3-gE	KIT3-gE	KIT2-gE	KIT3-gE	KIT1-gE	KIT1-gE	KIT3-gE	KIT3-gE	

*in blu sono stati evidenziati gli esiti "dubbi" ma concordanti con i valori attesi ed in rosso gli esiti discordanti con i valori attesi.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Tabella 5: risultati relativi al test ELISA per la ricerca degli anticorpi gB suddivisi per laboratorio con l'indicazione del kit di utilizzo.

N. campione	Esiti attesi	Numero Laboratorio													
		L176	L230	L303	L319	L403	L444	L510	L550	L598	L606	L610	L634	L821	L994
1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N
4	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
5	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
6	P	P	P	P	P	P	P	P	P	D	D	P	P	P	P
7	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
8	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	D	N	N
9	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
10	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
11	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
12	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
13	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
14	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
15	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
16	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
17	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N
18	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N
19	P	P	P	P	P	P	P	P	P	D	D	P	P	P	P
20	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
KIT N.		KIT1-gB	KIT2-gB	KIT1-gB	KIT2-gB	KIT2-gB	KIT2-gB	KIT1-gB	KIT1-gB	KIT3-gB	KIT3-gB	KIT2-gB	KIT3-gB	KIT1-gB	KIT1-gB

*in blu sono stati evidenziati gli esiti "dubbi" ma concordanti con i valori attesi ed in rosso gli esiti discordanti con i valori attesi.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Tabella 6: numero di campioni analizzati, concordanza, accuratezza e test dell'omogeneità degli esiti per la ricerca degli anticorpi gE e gB, per ciascun laboratorio del circuito.

Laboratorio	ELISA gE			ELISA gB		
	Numero Campioni Analizzati	K di Cohen	Accuratezza	Numero Campioni Analizzati	K di Cohen	Accuratezza
L-025	20	1	20/20	non eseguito	-	-
L-097	20	0.9	19/20	non eseguito	-	-
L-120	20	1	20/20	non eseguito	-	-
L-176	20	0.8	18/20	20	1	20/20
L-195	20	0.8	18/20	non eseguito	-	-
L-230	20	1	20/20	20	1	20/20
L-303	20	1	20/20	20	1	20/20
L-319	20	1	20/20	20	1	20/20
L-386	20	1	20/20	non eseguito	-	-
L-403	20	1	20/20	20	1	20/20
L-444	20	1	20/20	20	1	20/20
L-500	20	0.9	19/20	non eseguito	-	-
L-510	20	1	20/20	20	0.7	18/20
L-550	20	1	20/20	20	1	20/20
L-598	20	1	20/20	20	1	20/20
L-606	20	0.8	18/20	20	0.7	18/20
L-610	20	1	20/20	20	1	20/20
L-634	20	1	20/20	20	0.9	19/20
L-733	20	1	20/20	non eseguito	-	-
L-821	20	1	20/20	20	1	20/20
L-870	20	0.8	18/20	non eseguito	-	-
L-973	20	0.8	18/20	non eseguito	-	-
L-994	20	1	20/20	20	1	20/20
K di Fleiss	0.915 [0.889;0.941]			0.909 [0.867;0.952]		
Test di omogeneità	p=1.000			p=0.9998		
K di Cohen tutti i lab.	0.948 [0.918;0.977]			0.960 [0.920;0.999]		



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Elisa gE

La Tabella 4 mostra i risultati della prova per ricerca anticorpi anti-gE ottenuti dai 23 laboratori che hanno partecipato al ring test. I risultati riportati nella tabella mostrano la presenza sia di alcuni risultati dubbi, ma che concordano con il valore atteso del siero come positivo, sia di risultati in disaccordo con il valore atteso del siero. Alcuni dei laboratori hanno riportato risultati dubbi per alcuni campioni con un valore atteso positivo: il campione 6 da cinque laboratori, i campioni 19 e 20 da tre laboratori, i campioni 10 e 14 da due laboratori e il campione 15 da un solo laboratorio. Inoltre, sono stati riscontrati risultati discordanti con il valore atteso del siero: i campioni 2, 10 e 15 (valore atteso positivo) sono stati riportati negativi da 1, 6 e 5 laboratori rispettivamente. Tutti questi laboratori hanno utilizzato lo stesso kit (KIT 3-gE). Inoltre, un laboratorio, che ha utilizzato il KIT 2-gE, ha riportato dubbio il campione 16 ma è stato comunque considerato concordante con il valore atteso del siero positivo.

Confrontando i risultati di ciascun laboratorio con i valori attesi dei sieri è possibile calcolare l'indice K di Cohen per ciascun laboratorio (Tabella 6). L'indice K di Cohen è pari a 1 per sedici laboratori e per due è pari a 0.9 confermando la concordanza perfetta; infine, per cinque laboratori, due campioni sono risultati discordanti rispetto al valore atteso e l'indice K di Cohen è pari a 0.8, confermando quindi una concordanza considerevole.

L'indice K di Fleiss, che indica il grado di concordanza tra laboratori a livello generale, è pari a 0.915 indicando perfetta concordanza tra i laboratori del circuito.

Infine, il test Chi-quadrato per l'omogeneità nei risultati tra i diversi laboratori è risultato statisticamente significativo ($p=1.000$), è stato quindi possibile calcolare l'indice K di Cohen "globale" per confrontare il numero di campioni positivi e negativi ottenuti da tutti i laboratori con i risultati attesi ottenendo un valore pari a 0.948, questo valore indica la concordanza perfetta (Tabella 6).



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Elisa gB

La Tabella 5 mostra i risultati degli anticorpi anti-gB ottenuti dai 14 laboratori che hanno eseguito questa analisi. I risultati riportati nella tabella mostrano la presenza sia di alcuni risultati dubbi (che concordano comunque nella sostanza con il valore atteso del siero come positivo), sia di risultati in disaccordo con il valore atteso del siero. In particolare: ai campioni 6 e 19 è stato attribuito l'esito dubbio da due laboratori ma è stato considerato concordante in quanto il valore atteso dei sieri era positivo. Per altri campioni con valore atteso negativo, invece, è stato riportato un valore dubbio o positivo e quindi non concordante con il valore atteso del siero (campioni 3 e 18 da un laboratorio e il campione 8 da altro laboratorio). Questi laboratori hanno utilizzato lo stesso KIT 3-gB. Un solo laboratorio, che ha utilizzato il KIT 1-gB, ha riportato i campioni 8 e 17 come positivi con valore discordante rispetto al valore atteso del siero.

Confrontando i risultati di ciascun laboratorio con i valori attesi dei sieri è possibile calcolare l'indice K di Cohen per ciascun laboratorio (Tabella 6). L'indice K di Cohen è pari a 1 per undici laboratori e per uno è pari a 0.9 confermando la concordanza perfetta; infine, per due laboratori l'indice K di Cohen è pari a 0.7 indicando concordanza considerevole.

L'indice K di Fleiss che indica il grado di concordanza tra laboratori a livello generale è risultato pari a 0.909 dimostrando una concordanza perfetta tra i laboratori del circuito.

Infine, il test Chi-quadrato per l'omogeneità nei risultati tra i diversi laboratori è risultato statisticamente significativo ($p=0.9998$), è stato quindi possibile calcolare l'indice K di Cohen "globale" per confrontare il numero di campioni positivi e negativi ottenuti da tutti i laboratori con i risultati attesi ottenendo un valore pari a 0.960, questo valore conferma la concordanza perfetta tra i risultati ottenuti dai laboratori e i valori attesi (Tabella 6).

Conclusioni

Lo scopo di questo ring test era quello di verificare le prestazioni dei laboratori che partecipano ai piani nazionali e regionali per il controllo della Malattia di Aujeszky per quanto riguarda i test sierologici per gli anticorpi anti-gE e anti-gB. A questo circuito interlaboratorio hanno partecipato 23 laboratori per il test sierologico per gE e 14 per il test per gB. Il pannello di sieri utilizzato



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

comprendeva sieri di riferimento ottenuti da suini negativi SPF o da animali infettati o vaccinati sperimentalmente, in modo da avere una gamma di sieri con tutti i possibili valori attesi, gB e gE negativi, variabilmente positivi solo per gB e variabilmente positivi per gB e gE.

Nel complesso, i risultati forniti dai partecipanti possono essere considerati soddisfacenti, anche se per alcuni campioni sono stati osservati valori discordanti con il valore atteso dei sieri per entrambi i test gE e gB. Per quanto riguarda il primo test (sierologia per gE), 16 partecipanti hanno identificato correttamente tutti i sieri inviati con un livello di concordanza ottimale (K di Cohen). Sette laboratori, che hanno utilizzato lo stesso kit, hanno avuto problemi nell'identificare 1-2 sieri. Anche per il test sierologico gB, 11 laboratori partecipanti hanno identificato correttamente tutti i sieri con un livello di concordanza ottimale. Tre laboratori hanno riportato valori in disaccordo con il valore atteso per 1-2 campioni. Di questi, due hanno utilizzato il KIT 3-gB. I risultati del ring test mostrano in conclusione il buon livello di capacità diagnostica di tutti i laboratori partecipanti per la diagnosi sierologica delle glicoproteine gB e gE del virus della Malattia di Aujeszky. Tuttavia, si evidenziano alcuni problemi di performance diagnostica per i KIT 3 sia per la ricerca di anticorpi gB che gE. Tenendo in considerazione che tutti i laboratori (tranne uno) che non hanno identificato correttamente tutti i sieri hanno utilizzato gli stessi kit commerciali, le discordanze riscontrate, seppur minime, sembrano pertanto attribuibili a difficoltà diagnostiche del Kit più che a performances dei singoli laboratori stessi. Solo un laboratorio, che ha riportato 2 risultati discordanti per il test gB, ha utilizzato un Kit diverso che non ha creato problemi di performances agli altri laboratori utilizzatori.

Infine, considerando l'obbligo di vaccinazione di tutti i suini con il vaccino della delezione gE per la maggior parte delle regioni italiane, si sottolinea la necessità di valutare l'efficacia della vaccinazione attraverso la ricerca di anticorpi anti-gB e si raccomanda che un maggior numero di laboratori sia attrezzato per eseguire questo test.

Infine, desideriamo ringraziare i partecipanti al ring test per la loro collaborazione. Un ringraziamento particolare va anche agli Uffici centrali degli IIZZSS che hanno collaborato allo smistamento dei campioni e all'invio alle sedi periferiche, e al personale dell'Osservatorio Epidemiologico Regionale di Brescia che si è occupato dell'analisi statistica dei dati.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E
DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

BRESCIA
Reparto di Virologia
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LA MALATTIA
DI AUJESZKY

Via Bianchi, 9
25124 BRESCIA
(Italy)
Tel + 39 030-2290289
Fax +39 030-2290535
E-mail: virologia@izsler.it

Bibliografia

- [1] Fleiss, J. L. (1971). *Measuring nominal scale agreement among many raters*. Psychological Bulletin, Vol. 76.
- [2] R Core Team (2015). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- [3] Matthias Gamer, Jim Lemon and Ian Fellows Puspendra Singh (2012). irr: Various Coefficients of Interrater Reliability and Agreement. R package version 0.84.
- [4] Landis J, Koch G (1977) *The measurement of observer agreement for categorical data*. Biometrics 33(1):159-74.
- [5] Cohen, J. (1960). *A coefficient of agreement for nominal scales*. Educational and Psychological Measurement, 20, 37-46.
- [6] Agresti, A. (2007) *An Introduction to Categorical Data Analysis, 2nd ed.*, New York: John Wiley & Sons.