



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 2018/2019

REPORT FINALE

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 (CRN) per la Malattia di Aujeszky – Pseudorabbia. 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 CRN per la Malattia di Aujeszky sono quelli definiti nel DM 4.10.99, art. 2; tra questi compiti vi è anche quello di organizzare circuiti interlaboratorio, o ring test, a livello nazionale. La partecipazione al circuito interlaboratorio 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 2018/2019, è stato inviato un identico pannello di 22 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 20 laboratori dislocati su tutto il territorio nazionale (Tabella 1), ad ognuno dei quali è stato assegnato un numero identificativo casuale da 1 a 20.

Tabella 1 - Elenco dei laboratori che hanno aderito al Ring Test 2018/2019

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



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

IZS Mezzogiorno	Sede centrale di Portici, U.O.S. Diagnostica Virologica
	Sezione di Catanzaro - Lab. sierologia
IZS Puglia, Basilicata	Sede centrale di Foggia – U.O. Virologia
IZS Sicilia	Sede centrale di Palermo – Laboratorio diagnostica Virologica
IZS Sardegna	Sezione di Cagliari- Lab. sierologia
	Sede centrale di Sassari – Lab. malattie esotiche
	Sezione di Oristano
	Sezione di Nuoro – Lab di virologia diagnostica

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 2016/2017 e risultati attesi

Il pannello dei campioni distribuiti è costituito da 22 sieri di suino identificati con numeri progressivi da 1 a 22. Di seguito viene riportata la descrizione dei singoli sieri e in tabella 2 vengono riportati i risultati attesi.

Descrizione dei sieri utilizzati nel pannello

Siero 1- siero ottenuto da suino infettato per via endonasale con $10^{6.6}$ TCDI₅₀ del ceppo ADV7519 e prelevato 15 giorni post infezione

Siero 2- siero ottenuto da suino SPF infettato per via endonasale con $10^{6.6}$ TCDI₅₀ del ceppo ADV7519 e prelevato 13 giorni post infezione.

Siero 3- siero negativo ottenuto da suino SPF

Siero 4 - suino SPF vaccinato per tre volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio, prelevato 30 giorni dopo la terza vaccinazione.

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

Siero 6- suino SPF infettato per via endonasale con $10^{6.6}$ TCDI₅₀ del ceppo ADV7519 e prelevato 20 giorni post infezione.

Siero 7- suino SPF vaccinato una volta con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio, prelevato 60 giorni post 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 8- suino SPF vaccinato per tre volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio, prelevato 30 giorni dopo la terza vaccinazione.

Siero 9- suino SPF vaccinato per cinque volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per contatto con soggetti infettati sperimentalmente con il ceppo ADV7519 e prelevato 15 giorni post contatto.

Siero 10- suino SPF infettato per via endonasale con $10^{7.5}$ TCDI₅₀ del ceppo ADV (Kojnock strain) e prelevato 17 giorni post infezione.

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

Siero 12- siero negativo ottenuto da suino SPF

Siero 13- suino SPF vaccinato una volta con vaccino inattivato gE-deleto del commercio, prelevato 60 giorni post vaccinazione.

Siero 14- suino SPF infettato per via endonasale con $10^{6.6}$ TCDI₅₀ del ceppo ADV7519 e prelevato 11 giorni post infezione.

Siero 15- suino SPF vaccinato per due volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per contatto con soggetti infettati sperimentalmente con il ceppo ADV7519 e prelevato 10 giorni post contatto.

Siero 16- siero negativo ottenuto da suino SPF

Siero 17- suino SPF vaccinato per tre volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per contatto con soggetti infettati sperimentalmente con il ceppo ADV7519 e prelevato 15 giorni post contatto.

Siero 18- suino SPF vaccinato per due volte con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per contatto con soggetti infettati sperimentalmente con il ceppo ADV7519 e prelevato 10 giorni post contatto.

Siero 19- siero negativo ottenuto da suino SPF.

Siero 20- suino SPF infettato per via endonasale con $10^{6.6}$ TCDI₅₀ del ceppo ADV7519 e prelevato 19 giorni post infezione.

Siero 21- suino SPF vaccinato una volta con un vaccino inattivato gE-deleto del commercio e infettato per via endonasale con $10^{7.5}$ TCDI₅₀ del ceppo ADV252504/2006 e prelevato 17 giorni post infezione.



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 22- suino SPF infettato per via endonasale con $10^{6.6}$ TCDI₅₀ del ceppo ADV7519 e prelevato 11 giorni post infezione.

Risultati attesi

Tabella 2 - Sieri utilizzati nel pannello e risultato atteso in ELISA gE e gB

Identificazione siero	ELISA gB	ELISA gE
1	P	P
2	P	P
3	N	N
4	P	N
5	P	N
6	P	P
7	P	N
8	P	N
9	P	P
10	P	P
11	P	N
12	N	N
13	P	N
14	P	P
15	P	P
16	N	N
17	P	P
18	P	P
19	N	N
20	P	P
21	P	P
22	P	P

Kit ELISA utilizzati dai laboratori partecipanti

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

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



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

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

ID-VET- ID Screen® Aujeszky gB Competition

IDEXX - Pseudorabies Virus gpl Antibody Test Kit. HerdChek Anti-PRV gpl

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

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 referenza). 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).

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

Indice K	Concordanza tra risultati
<0.20	Scarsa/nessuna
0.20-0.40	Debole
0.40-0.60	Moderata
0.60-0.80	Buona
0.80-1.00	Ottima



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

Risultati

Il pannello dei campioni è costituito da 22 sieri di suini testati per la ricerca di anticorpi anti-gE e anti-gB e identificati con numeri progressivi da 1 a 22. 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 siero del laboratorio è risultato "dubbio" e il valore atteso del siero positivo, si considera il risultato concordante, quando invece il siero è dubbio ma quello atteso è negativo, il risultato viene considerato discordante .

Tutti i 20 laboratori hanno eseguito il test Elisa gE, mentre soltanto 13 di questi hanno eseguito anche il test Elisa gB. Uno dei sieri (n.16) ha presentato, in alcuni casi, dei problemi durante la fase di ricostituzione del liofilizzato, risultando non idoneo per 12 laboratori; per questo motivo il siero è stato escluso dagli analisi. Inoltre, poiché il campione numero 4 ha dato problemi a due laboratori del circuito, si è deciso di non considerare questi due risultati nelle analisi e di rimpiazzare il dato come valore mancante (missing value).

Per la ricerca degli anticorpi gE sono stati analizzati pertanto 21 campioni per tutti i laboratori, ad esclusione dei laboratori 13 e 14 che hanno analizzato 20 campioni; per la ricerca degli anticorpi gB sono stati analizzati 20 campioni nei laboratori 13 e 14, mentre sono stati analizzati 21 campioni nei laboratori 1, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 15, 16, 17 e 20.

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 gE suddivisi per laboratorio

SIERO	STATUS	LABORATORIO																			
		L-1	L-2	L-3	L-4	L-5	L-6	L-7	L-8	L-9	L-10	L-11	L-12	L-13	L-14	L-15	L-16	L-17	L-18	L-19	L-20
1	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
2	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
3	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NI	NI	N	N	N	N	N	N
5	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
6	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
7	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
8	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
9	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
10	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
11	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
12	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
13	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
14	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
15	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
16	NEG	N	NI	NI	N	NI	NI	NI	N	NI	NI	N	NI	NI	NI	NI	NI	N	N	N	N
17	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
18	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
19	NEG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
20	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
21	POS	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
22	POS	D	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
	KIT	3	1	1	2	2	3	1	1	2	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	2

NI: non idoneo

LEGENDA KIT:

- 1: IDEXX - Pseudorabies Virus gpl Antibody Test Kit. HerdChek Anti-PRV gpl
- 2: IZSLER- Malattia di Aujeszky gE: anticorpi – Elisa competitiva (kit IZS-BS)
- 3: ID-VET- ID Screen® Aujeszky gE Competition



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 gB suddivisi per laboratorio

SIERO	STATUS	L-1	L-4	L-5	L-8	L-9	L-10	L-12	L-13	L-14	L-15	L-16	L-17	L-20
1	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	256 P	>256 P
2	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	128 P	>256 P
3	NEG	N	N N	N	N	N N	N	N	N	N	N	N	N N	N N
4	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	NI	NI	P	P	256 P	>256 P
5	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	128 P	>256 P
6	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
7	POS	P	64 P	P	P	64 P	P	P	P	P	P	P	32 P	64 P
8	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
9	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
10	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
11	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
12	NEG	N	N N	N	N	N N	N	N	N	N	P	N	N N	N N
13	POS	P	64 P	P	P	64 P	P	P	P	P	P	P	32 P	64 P
14	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
15	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
16	NEG	N	N N	NI	N	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	N N	N N
17	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
18	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
19	NEG	N	N N	N	N	N N	N	N	N	N	N	D	N N	N N
20	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	128 P	>256 P
21	POS	P	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	>256 P	>256 P
22	POS	D	>256 P	P	P	>256 P	P	P	P	P	P	P	256 P	>256 P
	KIT	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2	2

NI: non idoneo

LEGENDA KIT:

- 1: IDEXX - Pseudorabies Virus gB Antibody Test Kit. HerdChek Anti-PRV gB
- 2: IZSLER- Malattia di Aujeszky gB: anticorpi – Elisa competitiva (kit IZS-BS) con titolo
- 3: ID-VET- ID Screen® Aujeszky gB Competition



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

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

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

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	95%CI	Accuratezza
Lab1	21	1	21/21	21	1		21/21
Lab2	21	1	21/21	non eseguito	-	-	21/21
Lab3	21	1	21/21	non eseguito	-	-	21/21
Lab4	21	1	21/21	21	1		21/21
Lab5	21	1	21/21	21	1		21/21
Lab6	21	1	21/21	non eseguito	-	-	21/21
Lab7	21	1	21/21	non eseguito	-	-	21/21
Lab8	21	1	21/21	21	1		21/21
Lab9	21	1	21/21	21	1		21/21
Lab10	21	1	21/21	21	1		21/21
Lab11	21	1	21/21	non eseguito	-	-	21/21
Lab12	21	1	21/21	21	1		21/21
Lab13	20	1	20/20	20	1		20/20
Lab14	20	1	20/20	20	1		20/20
Lab15	21	1	21/21	21	0.77	[0.36;1]	20/21
Lab16	21	1	21/21	21	0.77	[0.36;1]	20/21
Lab17	21	1	21/21	21	1		21/21
Lab18	21	1	21/21	non eseguito	-	-	21/21
Lab19	21	1	21/21	non eseguito	-	-	21/21
Lab20	21	1	21/21	21	1		21/21
K di Fleiss		1			0.94	[0.90;0.99]	
Test di omogeneità		p=1.0			p=1.0		
K di Cohen tutti i lab.		1			0.97	[0.85;1.0]	

*in rosso sono evidenziati i laboratori che riportano un esito diverso da quello atteso per gli anti-gB

Elisa gE

Tutti i sieri del pannello sono stati individuati correttamente dai 20 laboratori partecipanti al ring test, di conseguenza l'indice K di Fleiss è pari a 1 indicando una concordanza ottima.

A maggior ragione, anche a livello di singolo laboratorio, l'indice K di Cohen è pari a 1 confermando la concordanza ottima con il valore atteso dei sieri (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

il test Chi-quadrato dimostra l'omogeneità nei risultati tra i diversi laboratori ($p=1.0$), è stato quindi possibile calcolare l'indice K di Cohen per tutti i laboratori ottenendo un valore pari a 1, che indica la concordanza ottima.

Elisa gB

Tutti i sieri del pannello sono stati individuati correttamente dai 13 laboratori partecipanti al ring test, ad esclusione di due campioni negativi che sono stati individuati come positivo o dubbio dai laboratori 15 e 16. L'indice K di Fleiss è risultato pari a 0.94 (95%CI: [0.90;0.99]) dimostrando comunque una concordanza ottima tra i laboratori del circuito.

A livello di singolo laboratorio, l'indice K di Cohen risulta pari a 1 per tutti i laboratori, ad eccezione del laboratorio 15 che riporta una positività al 12-esimo siero atteso come negativo ($K=0.77$, 95%CI: [0.36;1]) e il laboratorio 16 che riporta un risultato dubbio al 19-esimo siero atteso come negativo ($K=0.77$, 95%CI: [0.36;1]); per questi due laboratori il valore di concordanza è comunque risultato buono.

Il test esatto di Fisher per l'omogeneità non risulta statisticamente significativo, si è calcolato quindi l'indice K di Cohen per tutti i laboratori il quale è risultato pari a 0.97 (95%CI: [0.85;1.0]) evidenziando un accordo perfetto tra i risultati ottenuti dai laboratori e quelli del CRN.

Conclusioni

L'obiettivo del presente ring test era quello di verificare le prestazioni dei laboratori partecipanti ai piani nazionali e regionali per il controllo della malattia di Aujeszky, relativamente alle prove sierologiche con ricerca di anticorpi anti-gE e anti-gB. I laboratori partecipanti a questo circuito interlaboratorio sono stati 20 per la prova sierologica per gE e 13 per la prova per gB.

Nel complesso i risultati forniti dai partecipanti possono ritenersi ampiamente soddisfacenti. Per quanto riguarda la prima prova (sierologica per gE) tutti i 20 partecipanti hanno identificato in modo corretto tutti i sieri inviati con un livello di concordanza (K di Cohen) ottimale. Nella prova sierologica gB sono state evidenziate discordanze per due dei sieri, in due Laboratori diversi, con un livello complessivo di concordanza comunque soddisfacente.



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

I risultati del ring test evidenziano quindi in conclusione il buon livello delle capacità diagnostiche di tutti i laboratori partecipanti per la diagnosi sierologica verso la glicoproteine gB e gE del virus della malattia di Aujeszky.

Un'ultima considerazione scaturisce dalla scarsa adesione al ring test per ricerca di anticorpi anti-gB. Considerato l'obbligo di vaccinazione di tutti i suini con vaccino gE deleto e la necessità quindi di valutare l'efficacia vaccinale attraverso la ricerca di anticorpi anti-gB, sembra opportuno che un maggior numero di laboratori si attrezzino per l'esecuzione di tale prova.

Si ringraziano infine i partecipanti alla prova per la collaborazione prestata. Un particolare ringraziamento va rivolto anche alle Sedi Centrali degli IZZSS che hanno collaborato nello smistamento dei campioni e nell'invio alle sedi periferiche e al personale dell'Osservatorio Epidemiologico Regionale di Brescia che ha curato l'analisi statistica dei dati.

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.