

**RISULTATI**  
**CIRCUITO INTERLABORATORIO**  
**AGID per AIE**

*Anno 2011*

**ENTE ORGANIZZATORE:** ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA -  
SEDE DI ROMA  
CENTRO REFERENZA ANEMIA INFETTIVA EQUINA

Responsabile Dott. Autorino Gian Luca  
E-mail: [gianluca.autorino@izslt.it](mailto:gianluca.autorino@izslt.it)

Via Appia Nuova 1411 – 00178 ROMA Capannelle  
Tel.: +39 06 79099 449 – 315 – 353 – 405 – 446 – 448  
Fax: +39 06 79340724

---

**GRUPPO DI LAVORO:** Dott.ssa Scicluna M. T.; e-mail: [teresa.scicluna@izslt.it](mailto:teresa.scicluna@izslt.it)  
Tel.: +39 06 79099 315  
Fax: +39 06 79340724

Dott.ssa Ricci I.; e-mail: [ida.ricci@izslt.it](mailto:ida.ricci@izslt.it)  
Tel.: +39 06 79099 353  
Fax: +39 06 79340724

# CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

## **INTRODUZIONE**

In base a quanto previsto dal D.M. 4/10/1999, il Centro di Referenza Nazionale per l'Anemia Infettiva Equina (CRAIE) organizza annualmente dal 2002 un Circuito Interlaboratorio (CI) per valutare la competenza tecnica dei singoli laboratori nell'AGID impiegata per la sierodiagnosi di Anemia Infettiva Equina (AIE). La soddisfacente partecipazione al CI, con l'adozione delle eventuali azioni correttive previste qualora emergano delle criticità, consente ai laboratori partecipanti di mantenere gli standard qualitativi richiesti per le prove accreditate. Nel 2011 hanno partecipato al Circuito n° 65 laboratori distribuiti tra sedi e sezioni degli II.ZZ.SS. nazionali, oltre al Servizio di Igiene Ambientale di San Marino.

## **PROVE PREVISTE DAL CIRCUITO**

- Test di Coggins (D.M. 04.12.1976)
- Tecnica AGID descritta nel Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals OIE (Manuale OIE)

## **COMPOSIZIONE DEL PANNELLO DI SIERI**

E' stato distribuito ai laboratori partecipanti un pannello di n°10 sieri, numerati progressivamente da 1 a 10, con diversa distribuzione delle aliquote all'interno del pannello; nel pannello erano presenti n° 2 sieri negativi e n° 8 sieri positivi a diverso grado di positività: positivo forte/strong positive (SP); positivo intermedio/medium positive (MP) e positivo debole/weak positive (WP).

I sieri inclusi nel pannello derivano da sieri di riferimento e di collezione del CRAIE, alcuni dei quali prelevati a soggetti con infezione in atto e sottoposti ad immunosoppressione farmacologica, risultati positivi e negativi all'AGID per AIE. Inoltre, per verificare se "vero" il fenomeno, sospettato negli ultimi anni, che numerosi laboratori restituissero i risultati in AGID, pur effettuando conferme interne sui campioni di difficile interpretazione (WP) attraverso l'impiego del più sensibile metodo ELISA, è stato inserito un siero "civetta" (corrispondente al n. 8). Tale campione "artificiale" presentava una debole reazione di identità se cimentato con antigene ricombinante, mentre risultava negativo nell'immunodiffusione impiegando l'antigene virale e/o ai differenti test ELISA disponibili. Pertanto, ai fini della prova interlaboratorio, per tale siero sono stati interpretati come "corretti" i risultati "negativi" ottenuti impiegando l'antigene ottenuto da tessuto-coltura e i risultati "positivi" con l'utilizzo di antigene ricombinante. Viene riportata nella tabella che segue il dettaglio delle reazioni osservate dal CRAIE e l'esito atteso in relazione al tipo di antigene impiegato:

# CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

Tabella 1. Composizione del pannello di sieri

N° progressivo siero CRAIE	Reattività sieri	Esito atteso impiegando come antigene la p26 ricombinante	Esito atteso impiegando come antigene il virus AIE intero
1	WP	POSITIVO	POSITIVO
2	N	NEGATIVO	NEGATIVO
3	MP	POSITIVO	POSITIVO
4	WP	POSITIVO	POSITIVO
5	SP	POSITIVO	POSITIVO
6	WP	POSITIVO	POSITIVO
7	MP	POSITIVO	POSITIVO
8	WP/N*	POSITIVO	NEGATIVO
9	N	NEGATIVO	NEGATIVO
10	WP	POSITIVO	POSITIVO

\*reazione osservabile impiegando come antigene il virus intero AIE

## Valutazione statistica dei risultati

Per la valutazione statistica dei risultati del RING TEST si è utilizzata la statistica K. La statistica K proposta da Cohen è volta a stimare l'accordo tra due o più osservatori che, nello specifico, effettuano delle osservazioni secondo un scala di valutazione nominale (positivo o negativo). L'uso del K permette di standardizzare la differenza tra la concordanza totale osservata ( $p_o$ ) e la concordanza attesa per effetto del caso ( $p_e$ ), dividendola per la massima differenza possibile non casuale.

Per la determinazione del valore di k si può utilizzare la seguente formula:

$$k = \frac{p_o - p_e}{1 - p_e}$$

Il valore di k teoricamente può variare tra -1 e +1; in realtà l'indice di K ha significato solo quando è positivo. Il valore massimo di k pari a +1 corrisponde ad una concordanza totale tra i due operatori, e quello minimo di -1 rappresenta il massimo grado di disaccordo possibile.

La formula sopra riportata si può anche applicare ad n operatori permettendo di calcolare il K multiplo di Fleiss per stimare il grado di accordo complessivo tra più operatori che effettuano separatamente osservazioni in condizioni operative simili.

# CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

## Interpretazione del valore di K

In letteratura sono riportati diversi criteri di valutazione del valore del K ottenuto dalle prove di laboratorio; qui di seguito viene proposta la tabella di valutazione di Altman:

Tabella 2 . Classificazione di Altman

VALORE DI K	Grado di accordo
<0,20	SCARSO
0,21- 0,40	MEDIOCRE
0,42 - 0,60	MEDIO
0,61- 0,80	BUONO
0,81- 1	MOLTO BUONO

Valori di  $K > 0,75$  indicano ottimi livelli di concordanza non attribuibili all'effetto del caso. Nel caso in cui il valore di Kappa assuma invece valori inferiori a 0,75 è opportuno chiedere al CRAIE un nuovo pannello di sieri per ripetere la prova, individuare i punti critici ed adottare opportune azioni correttive ove possibile.

Nel presente report si riporta pertanto per ciascun laboratorio la concordanza osservata ( $p_o$ ) nei risultati del RING TEST con il Centro di Referenza (CRAIE), la concordanza attesa per effetto del caso ( $p_e$ ), il valore di k rispetto al CRAIE con il dettaglio delle reazioni osservate dal singolo laboratorio rispetto all'atteso del CRAIE (tabelle 3,4,7,8). Si riporta infine il valore del K multiplo per prova tra i laboratori partecipanti riferito alle due metodiche impiegate (tabelle 5 e 6).

Per un'analisi più completa degli esiti ottenuti si riportano inoltre i valori di sensibilità e specificità per singolo laboratorio (tabelle 9 e 10) in riferimento alle due metodiche impiegate calcolate come segue:

		CRAIE		
		+	-	
LAB	+	a	b	a+b
	-	c	d	c+d
		a+c	b+d	

Sensibilità (Se):  $a/a+c$

Specificità (Sp):  $d/b+d$

## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

International Journal of Food Microbiology 79 (2002) 175-181. Analysing collaborative trials for qualitative microbiological methods: accordance and concordance. S.D. Langton, R. Chevennement, N. Nagelkerker, B. Lombard

Guidelines of the Office International des Epizooties for laboratory quality evaluation, for international reference standards for antibody assays and for laboratory proficiency testing. Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz., 1998, 17 (2), 600-609.

"Equine Infectious Anaemia" in Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6th edition, 2008; Part 2, Section 2.5, Chapter 2.5.6 (pagg. 866-870).

# CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

## RISULTATI

Sono di seguito riportate le tabelle relative ai due metodi impiegati (Coggins- AGID OIE) riferite ai risultati ottenuti dai singoli laboratori (1 e 2), alla distribuzione degli errori per per siero esaminato (3 e 4), alla distribuzione dei laboratori secondo la scala di Altman (5 e 6), ai valori di concordanza singola e multipla (7, 8 e 9,10) e, infine, alla sensibilità e specificità dei laboratori.

**TABELLA 1**

**TECNICA AGID METODO COGGINS: DETTAGLIO DELLE REAZIONI OSSERVATE DAI SINGOLI LABORATORI E LORO DISTRIBUZIONE IN FUNZIONE DEL VALORE DI KAPPA OTTENUTO**

COD. LAB.	K	RISULTATI ATTESI										
		P	N	P	P	P	P	P	N/P	N	P	
1	1	P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
2		P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
3		P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
8		P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
18*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
20*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
21*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
22*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
23*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
24*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
25*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
26*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
31*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
32*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
49		P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
19*	0,78	N	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
27*		N	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
29*		N	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
30*		N	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
42	0,74	P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
43		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
44		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
45		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
46		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
47		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
48		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
51		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
52		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
53		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
56		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
57		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
58		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
59		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
60		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
61	P	N	P	P	P	P	P	N	N	P		

LEGENDA – Alle caselle con sfondo in grigio corrispondono errori di risultato.

(\* ) laboratori che hanno impiegato per la prova il virus intero come antigene AIE.

## CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

**TABELLA 2: TECNICA AGID METODO OIE – DETTAGLIO DELLE REAZIONI OSSERVATE DAI SINGOLI LABORATORI E LORO DISTRIBUZIONE IN FUNZIONE DEL VALORE DI KAPPA OTTENUTO**

COD. LAB.	K	RISULTATI ATTESI										
		P	N	P	P	P	P	P	N/P	N	P	
1	1	P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
2		P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
3		P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
8		P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
10*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
12*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
14*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
15*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
16*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
17*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
20*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
26*		P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	P
65		P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P
11*		0,78	N	N	P	P	P	P	P	N	N	P
27*	N		N	P	P	P	P	P	N	N	P	
5	0,74	P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
6		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
7		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
9		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
33		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
34		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
35		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
36		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
37		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
39		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
41		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
50		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
51		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
52		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
53		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
54		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
55		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
56		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
57		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
58		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
59		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
60		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
61		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
62		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
63		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
64		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
66		P	N	P	P	P	P	P	N	N	P	
4		0,55	N	N	P	P	P	P	P	N	N	P
40	P		N	P	P	P	P	P	N	N	N	
69	0,19	N	N	N	N	P	N	P	P	N	N	

LEGENDA – Alle caselle con sfondo in grigio corrispondono errori di risultato.

(\*) laboratori che hanno impiegato per la prova il virus intero come antigene AIE.

## CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

**TABELLA 3** - AGID METODO COGGINS: DISTRIBUZIONE DEGLI ERRORI PER SIERO ESAMINATO

<b>PROGRESSIVO SIERO</b>	<b>N° ERRORI (%)</b>
1 WP	<b>4 (11%)</b>
2 - N	0
3 - MP	0
4 - WP	0
5 - SP	0
6 - WP	0
7 - MP	0
8 - WP	<b>16 (46%)</b>
9 - N	0
10 - WP	0

**TABELLA 4** - AGID METODO OIE – DISTRIBUZIONE DEGLI ERRORI PER SIERO ESAMINATO

<b>PROGRESSIVO SIERO</b>	<b>N° ERRORI PER LAB. (%)</b>
1 WP	<b>4 (9%)</b>
2 - N	0
3 - MP	<b>1 (2%)</b>
4 - WP	<b>1 (2%)</b>
5 - SP	0
6 - WP	<b>1 (2%)</b>
7 - MP	0
8 - WP	<b>29 (64%)</b>
9 - N	0
10 - WP	<b>2 (4%)</b>

**TABELLA 5** - AGID METODO COGGINS: DISTRIBUZIONE DEI LABORATORI IN FUNZIONE DEI VALORI DELLA SCALA DI ALTMAN

<b>N° lab. partecipanti</b>	<b>N° lab. <math>0,81 &lt; K &lt; 1</math> (% su tot.)</b>	<b>N° lab. <math>0,61 &lt; K &lt; 0,8</math> (% su tot.)</b>
35	15 (43%)	20 (57%)

**TABELLA 6** - AGID METODO OIE – DISTRIBUZIONE DEI LABORATORI IN FUNZIONE DEI VALORI DELLA SCALA DI ALTMAN

<b>N° lab. partecipanti</b>	<b>N° lab. <math>0,81 &lt; K &lt; 1</math> (% su tot.)</b>	<b>N° lab. <math>0,61 &lt; K &lt; 0,8</math> (% su tot.)</b>	<b>N° lab. <math>0,42 &lt; K &lt; 0,6</math> (% su tot.)</b>	<b>N° lab. <math>K &lt; 0,20</math> (% su tot.)</b>
45	13 (29%)	29 (64%)	2 (4%)	1 (2%)

## CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

**TABELLA 7** - TECNICA AGID METODO COGGINS - VALORI DI CONCORDANZA OSSERVATA, ED ATTESA PER EFFETTO DEL CASO E VALORE DI KAPPA PER LABORATORI

<b>CONCORDANZA OSSERVATA</b>	<b>CONCORDANZA ATTESA PER EFFETTO DEL CASO</b>	<b>KAPPA</b>	<b>CODICE IDENTIFICATIVO LABORATORI</b>
1	0,68	1	1, 2, 3, 8, 49
1	0,58	1	18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 31, 32
0,9	0,54	0,78	19, 27, 29, 30
0,9	0,62	0,74	42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 51, 52, 53, 56, 57, 58, 59, 60, 61

**TABELLA 8** - K MULTIPLO; AGID COGGINS

<b>N° LABORATORI PARTECIPANTI</b>	<b>KAPPA MULTIPLO</b>
<b>35</b>	<b>0.85</b>

## CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

**TABELLA 9** - TECNICA AGID METODO OIE - VALORI DI CONCORDANZA OSSERVATA E ATTESA PER EFFETTO DEL CASO E VALORE DI KAPPA PER LABORATORI

<b>CONCORDANZA OSSERVATA</b>	<b>CONCORDANZA ATTESA PER EFFETTO DEL CASO</b>	<b>KAPPA</b>	<b>CODICE IDENTIFICATIVO LABORATORIO</b>
1	0,68	1	1, 2, 3, 8, 65
1	0,58	1	10, 12, 14, 15, 16, 17, 20, 26
0,9	0,54	0,78	11, 27
0,9	0,62	0,74	5, 6, 7, 9, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 41, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 66
0,8	0,56	0,55	4, 40
0,5	0,38	0,19	69

**TABELLA 10** - K MULTIPLO; AGID OIE

<b>N° LABORATORI PARTECIPANTI</b>	<b>KAPPA MULTIPLO</b>
<b>45</b>	<b>0.78</b>

## CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

**TABELLA 11 - TECNICA AGID METODO COGGINS – SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DEI LABORATORI**

<b>SENSIBILITA' (%)</b>	<b>SPECIFICITA' (%)</b>	<b>CODICE IDENTIFICATIVO LABORATORIO</b>
100%	100%	<b>1, 2, 3, 8, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 31, 32, 49</b>
88%	100%	<b>42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 51, 52, 53, 56, 57, 58, 59, 60, 61</b>
86%	100%	<b>19, 27, 29, 30</b>

**TABELLA 12 - TECNICA AGID METODO OIE – SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DEI LABORATORI**

<b>SENSIBILITA' (%)</b>	<b>SPECIFICITA' (%)</b>	<b>CODICE IDENTIFICATIVO LABORATORIO</b>
100%	100%	<b>1, 2, 3, 8, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 20, 26, 65</b>
88%	100%	<b>5, 6, 7, 9, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 41, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 66</b>
86%	100%	<b>11, 27</b>
75%	100%	<b>4, 40</b>
38%	100%	<b>69</b>

## CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

### DISCUSSIONE

I valori di kappa multiplo ottenuti risultano inferiori sia per il Test di Coggins (0,85) che per il metodo OIE (0,79) a quelli degli anni precedenti, compresi tra 0,94 e 1 tra il 2007 ed il 2010.

In sintesi, 20 laboratori che hanno utilizzato la prova secondo Coggins non hanno individuato correttamente un solo siero (tabella 1), ottenendo valori di K compresi tra 0,61 e 0,8 ed un livello di concordanza "buono" secondo la scala di Altman (tabella 5). Tuttavia, va precisato che per 16 di questi 20 laboratori il K risulta pari a 0,74 (<0,75), pertanto da verificare in base ai criteri di interpretazione espressi in premessa.

Per quanto riguarda l'AGID OIE, 29 dei 45 laboratori hanno interpretato erroneamente soltanto un siero, tutti con un "buon livello" di concordanza considerando la scala di Altman con valori di K compreso tra 0,61 e 0,8 (tabella 6); anche in questo caso, 27 di questi con valore pari a 0,74 e quindi inferiore alla soglia di accettabilità di 0,75. Degli altri laboratori, 2 dei 16 rimanenti hanno interpretato erroneamente n° 2 sieri riportando valori "medi" di K pari a 0,55 ed un solo laboratorio ha avuto una prestazione scarsa con 5 errori e  $K = 0,19$  (tabella 4).

Ad eccezione del laboratorio n° 69 con  $K < 0,20$  ("scarso" grado di accordo con il CRAIE), che dimostra evidenti problemi di interpretazione dei risultati, negli altri casi, la maggior frequenza di errori si colloca fra i sieri debolmente positivi di difficile interpretazione.

Inoltre, il valore di K multiplo ottenuto per la metodica OIE dimostra un grado di accordo complessivo inferiore rispetto al test di Coggins: 0,79 vs 0,85 (tabelle 5 e 6).

A tale situazione potrebbe corrispondere una minore sensibilità del sistema di sorveglianza nazionale in quanto, come anche dichiarato dalle comunicazioni degli II.ZZ.SS. relativamente alla richiesta di informazioni da parte del Ministero della Salute (Nota Min. Sal. 3/5/2011- prestazioni diagnostiche inerenti i piani nazionali di eradicazione e sorveglianza), la maggior parte dei laboratori impiega l'AGID OIE per facilità di preparazione (singolo strato di agar), minor consumo di reagenti (ridotto diametro dei pozzetti) e maggiore nitidezza della reazione di precipitazione (sebbene alcuni mantengano accreditate entrambe le prove: 45 laboratori partecipanti per AGID OIE vs 35 AGID Coggins, con 16 laboratori che hanno eseguito entrambi i metodi).

Con entrambi i metodi, gli errori di interpretazione dei singoli sieri (tabelle 3 e 4) sono concentrati fra quelli classificati come debolmente positivi, ad eccezione del siero n° 3, erroneamente identificato in OIE dal laboratorio n. 69.

I sieri del pannello con debole reazione positiva e maggiore difficoltà di interpretazione sono i nn. 1 e 8. In particolare per il n. 8, con reattività al limite (risultato atteso AGID pos/ELISA neg con p26 ricombinante), che 16/35 (46%) laboratori non ha identificato in Coggins ed il 29/45 (64%) in AGID OIE.

Non sono stati invece evidenziati errori per i sieri negativi, confermando l'alta specificità per la prova eseguita con entrambi i metodi (tabelle 11 e 12).

## CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

Tali risultati, valutati contestualmente alla specificità (100%) ed alla scarsa sensibilità (inferiore al 88% per il 57% dei laboratori in Coggins ed al 71% nell'AGID OIE), richiederà l'adozione di un'azione correttiva per migliorare le performance diagnostiche del sistema.

### **CONSIDERAZIONI FINALI**

I risultati del circuito sono da mettere in relazione alla presenza di sieri debolmente positivi, di difficile interpretazione, all'interno del pannello distribuito. D'altra parte, considerando l'andamento e lo stato di attuazione del Piano di controllo, si è ritenuto di dover inserire campioni con reazione quanto più vicina a quella degli animali risultati positivi nel corso dell'ultimo periodo della sorveglianza.

D'altro canto, la graduale riduzione dei valori di prevalenza dell'AIE su scala nazionale osservata a partire dal 2009, a fronte della continua comparsa di nuovi casi in aziende già controllate o, anche, sede di focolai estinti, comporta la necessità di una maggiore attenzione e/o competenza tecnica rispetto all'interpretazione dei risultati dei saggi in AGID, metodica oggi ancora ampiamente utilizzata anche in fase di screening; tutto ciò al fine di non tralasciare positività anche al limite di reattività (sempre tenendo presente che non è possibile escludere la presenza di soggetti con anticorpi al di sotto della soglia di rilevabilità del test).

E' verosimile che i problemi attribuiti all'errata restituzione dei risultati relativi al "campione civetta n. 8" (vedasi sua reattività al paragrafo relativo alla composizione del pannello dei sieri), possano essere riconducibili all'impiego del test ELISA a scopo di conferma interna, prima della restituzione dei risultati in AGID (in alcuni casi i laboratori hanno eseguito in maniera separata con i due metodi trasmettendo inavvedutamente i risultati in doppio ed in altriè stato anche dichiarato di aver confermato con tale metodica l'esito dell'immunodiffusione). La stessa interpretazione corretta del siero n. 1 (WP) da parte dei laboratori che hanno restituito in maniera errata l'esito del siero n. 8, conferma detti comportamenti. Per dimostrare quanto sia importante l'impiego di un test di screening dotato di maggiore sensibilità ed oggettività di interpretazione dei risultati, i risultati del circuito sono stati rielaborati prendendo come assunto che i laboratori dovessero restituire i risultati a seguito di test ELISA e valutando come corretto l'esito negativo del campione n. 8: il K singolo e multiplo avrebbero raggiunto il massimo grado di accordo ( $K=1$ ) e la sensibilità valori pari al 100%.

Attualmente, solo alcuni laboratori (per la maggior parte le sedi degli II.ZZ.SS.) hanno introdotto la metodica ELISA come saggio di screening, preliminare rispetto all'AGID. Tuttavia, come più volte rappresentato, il protocollo diagnostico ideale per aumentare la sensibilità del sistema di sorveglianza, dovrebbe essere orientato, al contrario, all'impiego estensivo del metodo immunoenzimatico, non limitandolo a pochi laboratori. In ogni caso, rispetto alla verifica della specificità delle reazioni di difficile interpretazione, la responsabilità diagnostica rimarrebbe demandata al

## CIRCUITO INTERLABORATORIO AGID per AIE - ANNO 2011

Centro di referenza , fra i cui compiti è prevista la conferma dei casi positivi o sospetti.

Considerando che per il controllo e l'eradicazione Pag. di 14 dell'AIE rimane indispensabile l'allontanamento/isolamento dei soggetti infetti, si confermano i limiti diagnostici dell'immunodiffusione rispetto al suo impiego come metodo di screening per il reclutamento di tutti i positivi.

In questa ottica, il centro di referenza si propone di realizzare a partire dall'anno prossimo anche un circuito interlaboratorio specifico per l'ELISA.