



# **CIRCUITO INTERLABORATORIO PER LA DIAGNOSI DELLE PESTI SUINE**

**EDIZIONE 2025**

**REPORT FINALE**

Centro di Riferenza Nazionale  
per lo studio delle malattie da Pestivirus ed Asfivirus  
(CEREP)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", via Gaetano Salvemini, 1 - 06126 Perugia

## Sommario

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| Introduzione .....                                                         | 3  |
| Descrizione del circuito interlaboratorio.....                             | 3  |
| Tipologia del pannello e sua composizione .....                            | 3  |
| Pannello molecolare Pesti Suine .....                                      | 3  |
| Invio e istruzioni per la preparazione e utilizzo dei campioni prova ..... | 4  |
| Prove di omogeneità e stabilità .....                                      | 4  |
| Laboratori partecipanti .....                                              | 5  |
| Questionario .....                                                         | 6  |
| Risultati .....                                                            | 7  |
| Espressione dei risultati .....                                            | 7  |
| Elaborazione dei risultati .....                                           | 7  |
| Risultati ottenuti per la diagnosi molecolare di PSC .....                 | 8  |
| Risultati ottenuti per la diagnosi molecolare di PSA .....                 | 9  |
| Risultati del questionario .....                                           | 11 |
| Conclusioni .....                                                          | 14 |

## Introduzione

La Peste Suina Africana (PSA) e la Peste Suina Classica (PSC) sono malattie transfrontaliere che possono colpire sia i suini domestici che selvatici, con conseguenze devastanti per il comparto suinicolo. Sull'intero territorio nazionale, i campioni confermati come positivi dal Centro di riferimento Nazionale per le Pesti Suine (CEREP) derivano dalle attività previste dal Piano Nazionale di Sorveglianza ed Eradicazione.

Il Piano Nazionale di Sorveglianza ed Eradicazione, in vigore dal 2020, prevede di attuare la sorveglianza passiva sia nei cinghiali che nei suini domestici. A tale scopo, a partire dal 2020, tutti gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (I.I.ZZ.SS.) sono stati abilitati ad eseguire test di screening per la diagnosi molecolare di PSA, supportando le attività previste dal Piano Nazionale e rimanendo in stretta collaborazione con il Servizio Veterinario delle AA.SS.LL. A partire dall'edizione 2025, non verrà più proposto nel circuito interlaboratorio il pannello sierologico per PSA, in quanto il test ELISA PSA non è previsto dal Piano Nazionale di Sorveglianza ed Eradicazione. Ragioni contingenti e soprattutto legate alla biosicurezza, hanno determinato deroghe nella gestione dei test diagnostici e dei relativi risultati ai laboratori competenti alla gestione delle attività di eradicazione nelle aree attualmente considerate infette. Storicamente l'IZS della Sardegna è autorizzato a eseguire test di conferma dei casi rinvenuti nel territorio regionale e altrettanto è stato già concesso agli I.I.ZZ.SS. coinvolti nei Piani di Eradicazione regionali.

Il Piano Nazionale inoltre prevede una nuova strategia per la Peste Suina Classica (PSC), per la quale è stato ritenuto necessario allestire un sistema di *early detection* attraverso un adeguato livello di sorveglianza passiva. In particolare, il test sierologico (ELISA) è stato sostituito con quello molecolare (Real Time RT-PCR) per la ricerca del genoma virale, associando la sorveglianza per PSC a quella per PSA. Il sistema di sorveglianza prevede che tutti i campioni di suini domestici e di cinghiali, prelevati nell'ambito delle attività di sorveglianza passiva per PSA, vengano testati anche per PSC. Come per la PSA, i test biomolecolari di screening per PSC sono eseguiti presso i laboratori della rete degli I.I.ZZ.SS..

Tutto ciò premesso, il circuito interlaboratorio per le Pesti Suine, edizione 2025, ha previsto l'esecuzione, sul pannello molecolare, delle procedure analitiche per la ricerca del genoma virale di PSA e PSC, richieste dall'attuale Piano Nazionale di Sorveglianza ed Eradicazione.

Inoltre in questa edizione è stato sottoposto un questionario circa la capacità diagnostica dei partecipanti, sia in tempo di pace che di emergenza, nonché la presenza presso i laboratori di procedure che permettano la gestione dei campioni in caso di aumentato flusso.

## Descrizione del circuito interlaboratorio

### Tipologia del pannello e sua composizione

Il circuito interlaboratorio per la diagnosi delle Pesti Suine si compone di un pannello per la diagnosi molecolare di PSC e PSA ("Pannello molecolare Pesti Suine") costituito da 15 campioni.

### Pannello molecolare Pesti Suine

In accordo con le indicazioni contenute nel *WOAH Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, per la diagnosi diretta, ovvero identificazione dei virus della PSC e PSA, è stato considerato il test di Real Time PCR per la ricerca di porzioni dei genomi virali.

Sono stati selezionati 15 campioni da diverse tipologie di matrici biologiche presenti nella collezione del CEREP. I campioni positivi, a una o a entrambe le pesti, sono stati identificati, inattivati e diluiti in Primestore® MTM, e successivamente stoccati a +2/+8°C. I campioni negativi ad entrambe le pesti suine M01, M03, M08, M12, M14 derivano da omogenati di organo di animali provenienti da un'azienda indenne ubicata sul territorio umbro. Questi campioni sono stati controllati e risultano negativi mediante isolamento virale e metodiche biomolecolari in uso presso il CEREP. La

composizione del pannello molecolare e i risultati ottenuti dai campioni del pannello molecolare per le Pesti Suine mediante metodica Real Time PCR è schematizzata in tabella 1.

**Tabella 1. Descrizione del pannello molecolare per la diagnosi diretta delle Pesti Suine e esito.**

| Identificativo | Real time PSC | Real time PSA | Matrice biologica | Origine                       | Virus/Genotipo       |
|----------------|---------------|---------------|-------------------|-------------------------------|----------------------|
| <b>M01</b>     | NEG           | NEG           | Milza             | azienda indenne PSA/PSC       | /                    |
| <b>M02</b>     | NEG           | <b>POS</b>    | Milza             | Suino/Italia                  | IDBIO183/2004/I      |
| <b>M03</b>     | NEG           | NEG           | Rene              | azienda indenne PSA/PSC       | /                    |
| <b>M04</b>     | <b>POS</b>    | NEG           | Rene              | spike di laboratorio          | Alfort 187/1.1       |
| <b>M05</b>     | NEG           | <b>POS</b>    | Tonsilla          | Suino, infezione sperimentale | IDBIO6/2012 / I      |
| <b>M06</b>     | <b>POS</b>    | NEG           | Rene              | spike di laboratorio          | Alfort 187/1.1       |
| <b>M07</b>     | NEG           | <b>POS</b>    | Milza             | Suino, infezione sperimentale | IDBIO2986/2024 / II  |
| <b>M08</b>     | NEG           | NEG           | Tonsilla          | azienda indenne PSA/PSC       | /                    |
| <b>M09</b>     | <b>POS</b>    | NEG           | Rene              | spike di laboratorio          | Alfort 187/1.1       |
| <b>M10</b>     | NEG           | <b>POS</b>    | Milza             | Suino, Italia                 | IDBIO2312/2023 / II  |
| <b>M11</b>     | <b>POS</b>    | NEG           | Milza             | spike di laboratorio          | Diepholz 1/Han94/2.3 |
| <b>M12</b>     | NEG           | NEG           | Rene              | azienda indenne PSA/PSC       | /                    |
| <b>M13</b>     | <b>POS</b>    | NEG           | Milza             | spike di laboratorio          | Diepholz 1/Han94/2.3 |
| <b>M14</b>     | NEG           | NEG           | Milza             | azienda indenne PSA/PSC       | /                    |
| <b>M15</b>     | NEG           | <b>POS</b>    | Milza             | Cinghiale, Italia             | IDBIO2309/2023 / II  |

POS: positivo

NEG: negativo

### **Invio e istruzioni per la preparazione e utilizzo dei campioni prova**

Le istruzioni fornite in merito alla preparazione dei campioni per il pannello molecolare non prevedevano alcuna operazione prima dell'esecuzione della prova in quanto sono pronti all'uso.

Il partecipante era tenuto ad utilizzare una metodica di biologia molecolare a scelta tra quella suggerita dal CEREP o il Kit commerciale.

Periodo per l'esecuzione delle prove: dal 29/04/2025 al 26/05/2025.

### **Prove di omogeneità e stabilità**

Le prove di omogeneità e stabilità sono state eseguite con le seguenti metodiche:

#### Pannello molecolare per le Pesti Suine:

- PRT.PGCEREP.109 REV.006 - IDENTIFICAZIONE VIRUS PESTE SUINA AFRICANA (PSA) MEDIANTE REAL-TIME PCR. [OIE MANUAL FOR TERRESTRIAL ANIMALS, 2021 CAP. 3.9.1, PAR. B.1.3.]

- PRT.LNRPS2.007 REV.003 - IDENTIFICAZIONE VIRUS PESTE SUINA AFRICANA (PSA) MEDIANTE REAL-TIME PCR UPL. [OIE MANUAL FOR TERRESTRIAL ANIMALS, 2021 CAP. 3.9.1, PAR. B.1.3.]
- PRT.PGCEREP.008 REV. 006 - IDENTIFICAZIONE VIRUS PESTE SUINA CLASSICA (PSC) MEDIANTE REAL-TIME RT-PCR [OIE MANUAL FOR TERRESTRIAL ANIMALS, VERS. 2022, CAP 3.9.3, PAR.B.1.1.4]

I campioni risultano omogenei e stabili in quanto concordi con il risultato atteso.

Le informazioni relative alle prove di stabilità e omogeneità sono disponibili, su richiesta, presso il CEREP.

## Laboratori partecipanti

Al circuito interlaboratorio sono stati invitati a partecipare i laboratori delle sedi centrali di tutti gli II.ZZ.SS.. Inoltre, alcune sezioni periferiche hanno manifestato la volontà di prendere parte al circuito. Nel 2025, al circuito hanno preso parte 20 laboratori, tutti appartenenti alla rete degli II.ZZ.SS. per un totale di 8 II.ZZ.SS. coinvolti.

- 20 laboratori hanno eseguito le prove molecolari per PSA (Real Time PCR);
- 15 laboratori hanno eseguito le prove molecolari per PSC (Real Time RT-PCR);

Ciascun laboratorio è stato identificato con un codice numerico assegnato dal portale.

Nella Tabella 2A-B è riportato l'elenco dei laboratori partecipanti, sedi e ente di appartenenza.

**Tabella 2. Lista dei laboratori partecipanti all'edizione 2025 del circuito interlaboratorio per PSA (A) e per PSC (B).**

### A.

| Ente                                                                     | Numero laboratori per Ente per PSA |
|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <b>IZSAM</b>                                                             | <b>1</b>                           |
| Sezione di Teramo                                                        | 1                                  |
| <b>IZSLER</b>                                                            | <b>4</b>                           |
| Sezione di Mantova                                                       | 1                                  |
| Sezione di Modena                                                        | 1                                  |
| Sezione Pavia                                                            | 1                                  |
| Virologia Brescia                                                        | 1                                  |
| <b>IZSLT</b>                                                             | <b>2</b>                           |
| Direzione Operativa Diagnosi Malattie Virali e delle Leptospirosi - Roma | 1                                  |
| UOT TC - Sezione di Firenze                                              | 1                                  |
| <b>IZSME</b>                                                             | <b>2</b>                           |
| Diagnostica Virologica Napoli                                            | 1                                  |
| Molecolare Catanzaro                                                     | 1                                  |
| <b>IZSSA</b>                                                             | <b>4</b>                           |
| Sezione di Cagliari                                                      | 1                                  |
| Sezione di Sassari                                                       | 1                                  |
| Sierologia Nuoro                                                         | 1                                  |
| Sierologia Oristano                                                      | 1                                  |
| <b>IZSSI</b>                                                             | <b>1</b>                           |
| Laboratorio Diagnostica Sorveglianza Malattie Esotiche - Palermo         | 1                                  |

|                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>IZSPLVA</b>                                                            | <b>3</b>  |
| Sezione Cuneo                                                             | 1         |
| Sezione Genova                                                            | 1         |
| Virologia Torino                                                          | 1         |
| <b>IZSVe</b>                                                              | <b>3</b>  |
| Sezione di Padova - lab. Virologia diagnostica - U.O. Biologia Molecolare | 1         |
| Sezione di Pordenone                                                      | 1         |
| Sezione Territoriale di Verona                                            | 1         |
| <b>Totale complessivo</b>                                                 | <b>20</b> |

## Questionario

Il questionario somministrato a ogni partecipante è stato articolato in 6 domande (Figura 1).

1. Qual è il numero di campioni PSA che può essere testato virologicamente dal laboratorio in una settimana in condizioni di non emergenza?

- ✓ Meno di 50
- ✓ Da 50 a 99
- ✓ Da 100 a 299
- ✓ Da 300 a 500
- ✓ Altro (specificare)

2. Qual è il numero di campioni PSA che può essere testato virologicamente dal laboratorio in una settimana in condizioni di emergenza?

- ✓ Meno di 50
- ✓ Da 50 a 99
- ✓ Da 100 a 299
- ✓ Da 300 a 500
- ✓ Da 500 a 700
- ✓ Da 700 a 1000
- ✓ Altro (specificare)

3. Qual è il numero di campioni PSA che può essere testato sierologicamente dal laboratorio in una settimana in condizioni di non emergenza?

- ✓ Da 50 a 199
- ✓ Da 200 a 399
- ✓ Da 400 a 999
- ✓ Da 1000 a 2000
- ✓ Altro (specificare)

4. Qual è il numero di campioni PSA che può essere testato sierologicamente dal laboratorio in una settimana in condizioni di emergenza?

- ✓ Da 50 a 199
- ✓ Da 200 a 399
- ✓ Da 400 a 999
- ✓ Da 1000 a 2000
- ✓ Da 2000 a 3000
- ✓ Altro (specificare)

5. Esiste una procedura di emergenza che disponga le misure da attuare per sostenere l'improvviso aumento del carico di lavoro per il laboratorio in caso di emergenza PSA?

- ✓ Sì
- ✓ No

6. Se sì, quali sono?

- ✓ attivazione di una squadra di emergenza interna (operatori del proprio reparto), adeguatamente formati e abilitati
- ✓ attivazione di una squadra di emergenza esterna (operatori provenienti da altri reparti), formati e abilitati, da impiegarsi nel proprio laboratorio
- ✓ attivazione di un laboratorio supplementare, dotato di risorse (strumentali e umane) autonome e indipendenti dal proprio laboratorio
- ✓ attivazione di turni di lavoro nei giorni feriali per aumentare la capacità di lavoro della strumentazione
- ✓ estensione dell'orario di servizio da 5 a 6 giorni lavorativi
- ✓ altro (specificare)

**Figura 1. Elenco delle domande previste dal questionario e relativa tipologia di risposta.**

## Risultati

### Espressione dei risultati

Per quanto riguarda il pannello molecolare è stato richiesto di esprimere solo il risultato qualitativo (“positivo”, “negativo”, “dubbio”).

### Elaborazione dei risultati

In primo luogo, sono stati prodotti i risultati di riproducibilità diagnostica relativamente alle seguenti prove:

- Diagnosi PSC mediante Real Time RT-PCR
- Diagnosi PSA mediante Real Time PCR

L'accuratezza è stata valutata per ciascun laboratorio (e per il circuito nel suo complesso) mediante calcolo dell'indice di concordanza Kappa di Cohen ( $\kappa$ ) che misura la concordanza al netto del caso tra gli esiti prodotti dal laboratorio e il *gold standard* rappresentato dalla classificazione dei campioni del pannello di riferimento in veri positivi e veri negativi. Contestualmente, sono stati calcolati i relativi intervalli di confidenza al 95% (IC95%) e i valori di *p-value*, ritenendo significativi *p-value* inferiori a 0,05. In particolare, se il *p-value* relativo ad un indice  $\kappa$  risulta significativo (*p-value* < 0,05), allora è possibile escludere, con un certo livello di confidenza, che la concordanza osservata sia dovuta al caso. Infatti, la probabilità che quel valore di  $\kappa$  ottenuto sia dovuto al caso è inferiore al 5%. Infine, per l'interpretazione dell'indice  $\kappa$  si è fatto riferimento alla scala di Landis & Koch<sup>1</sup> (Tabella 3) che prevede la seguente classificazione:

**Tabella 3. Interpretazione indice Kappa di Cohen: scala di Landis and Koch.**

| $\kappa$ (*) | Livello di concordanza |
|--------------|------------------------|
| < 0          | Nulla                  |
| 0,00 – 0,20  | Scarsa                 |
| 0,21 – 0,41  | Discreta               |
| 0,41 – 0,60  | Moderata               |
| 0,61 – 0,80  | Buona                  |
| 0,81 – 1,00  | Ottima                 |

(\*)  $\kappa \in [-1,1]$

---

<sup>1</sup> Landis, J. R., & Koch, G. G. (1977). The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics*, 33(1), 159–174. <https://doi.org/10.2307/2529310>

## Risultati ottenuti per la diagnosi molecolare di PSC

Quindici laboratori hanno preso parte al circuito relativamente alla prova di Real Time RT-PCR per PSC. La totalità di essi ha prodotto esiti conformi all'atteso per l'intero pannello dei campioni di riferimento (Tabella 4).

**Tabella 4. Risultati della prova di Real Time RT-PCR per PSC per ciascun campione M01-M15 e per laboratorio.**

| ID campione              | M01  | M02 | M03 | M04 | M05 | M06 | M07 | M08 | M09 | M10 | M11 | M12 | M13 | M14 | M15 |   |
|--------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| Esiti attesi PCR per PSC | N    | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N   |   |
| ID Laboratori (n=15)     | 2408 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2404 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2424 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2407 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2403 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2401 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2410 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2412 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2409 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2413 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2422 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 1112 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2411 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 2405 | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |
|                          | 214  | N   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | N   | P   | N   | P   | N   | P   | N   | N |

Di seguito sono riportati per ciascun laboratorio e per l'intero circuito gli indici di concordanza  $\kappa$  di Cohen e i relativi IC95% e *p-value* (Tabella 5). Tutti i laboratori hanno dimostrato una concordanza ottima, con un alto livello di significatività, e conseguentemente anche l'intero circuito nel suo complesso ( $\kappa=1$ ).

**Tabella 5. Risultati di accuratezza di Real Time RT-PCR per PSC relativamente a ciascun laboratorio e all'intero circuito.**

| ID laboratorio  | $\kappa$ | IC95%        | p-value           |
|-----------------|----------|--------------|-------------------|
| 2408            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2404            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2424            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2407            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2403            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2401            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2410            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2412            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2409            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2413            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2422            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 1112            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2411            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 2405            | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| 214             | 1        | [1-1]        | 0,0001            |
| <b>Circuito</b> | <b>1</b> | <b>[1-1]</b> | <b>&lt;0,0001</b> |

La tabella 6 riporta i kit di estrazione per PSC utilizzati da ogni laboratorio partecipante al circuito interlaboratorio.



**Tabella 6. Kit di estrazione per PSC utilizzato da ogni partecipante.**

| Kit di estrazione                                                    | Numero laboratori |
|----------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Vuoto                                                                | 8                 |
| MagMAX CORE Nucleic Acid Purification Kit - THERMO FISHER SCIENTIFIC | 3                 |
| QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini kit QIAGEN                      | 3                 |
| QIAamp Viral RNA Mini Kit QIAGEN                                     | 1                 |
| <b>Totale complessivo</b>                                            | <b>15</b>         |

Tutti i laboratori hanno adottato il protocollo di Real Time RT-PCR secondo il WOAHP Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2023, cap. 3.9.3, par. B.1.1.4.

### Risultati ottenuti per la diagnosi molecolare di PSA

Venti laboratori hanno preso parte al circuito relativamente alla prova Real Time PCR per PSA. La totalità di essi ha prodotto esiti conformi all'atteso per l'intero pannello dei campioni di riferimento (Tabella 7).

**Tabella 7. Risultati della prova di Real Time PCR per PSA per ciascun campione e per laboratorio.**

| ID campione         | M01      | M02      | M03      | M04      | M05      | M06      | M07      | M08      | M09      | M10      | M11      | M12      | M13      | M14      | M15      |
|---------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <b>Esiti attesi</b> | <b>N</b> | <b>P</b> | <b>N</b> | <b>N</b> | <b>P</b> | <b>N</b> | <b>P</b> | <b>N</b> | <b>N</b> | <b>P</b> | <b>N</b> | <b>N</b> | <b>N</b> | <b>N</b> | <b>P</b> |
| 2423                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2408                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2404                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2424                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2407                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2403                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2401                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2410                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2412                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2402                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2406                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2409                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2421                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2413                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2422                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 1112                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2411                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2405                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 2426                | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |
| 214                 | N        | P        | N        | N        | P        | N        | P        | N        | N        | P        | N        | N        | N        | N        | P        |

Di seguito sono riportati gli indici di concordanza e i relativi IC95% e *p-value* per ciascun laboratorio e per l'intero circuito (Tabella 8). Tutti i laboratori hanno dimostrato una concordanza ottima, con un alto livello di significatività, e conseguentemente anche l'intero circuito nel suo complesso ( $\kappa=1$ ).

**Tabella 8. Risultati di accuratezza della prova di Real Time PCR per PSA relativamente a ciascun laboratorio e all'intero circuito.**

| ID laboratorio  | $\kappa$ | IC95%          | <i>p-value</i>    |
|-----------------|----------|----------------|-------------------|
| 2423            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2408            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2404            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2424            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2407            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2403            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2401            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2410            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2412            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2402            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2406            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2409            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2421            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2413            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2422            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 1112            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2411            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2405            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 2426            | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| 214             | 1        | [1 - 1]        | 0,0001            |
| <b>Circuito</b> | <b>1</b> | <b>[1 - 1]</b> | <b>&lt;0,0001</b> |

Tutti i valori di  $\kappa$  calcolati sono significativi e quindi la concordanza non è dovuta al caso ( $p < 0,05$ ). La tabella 9 riporta i kit di estrazione e la tabella 10 il protocollo di Real Time RT-PCR per PSA utilizzato da ogni laboratorio partecipante al circuito interlaboratorio.

**Tabella 9. Kit di estrazione utilizzato dai partecipanti.**

| Kit di estrazione                                                    | Numero di laboratori |
|----------------------------------------------------------------------|----------------------|
| MagMAX CORE Nucleic Acid Purification Kit - THERMO FISHER SCIENTIFIC | 6                    |
| QIA Symphony DSP Virus/Pathogen- QIAGEN                              | 3                    |
| IndiMag Pathogen Cartridge                                           | 1                    |
| Indimag pathogen Idical                                              | 1                    |
| Indimag Pathogen kit                                                 | 1                    |
| IndiMag Pathogen Kit- Indical                                        | 1                    |
| IndiMag Pathogen IM48 Cartridge                                      | 1                    |
| IndiMag Pathogen kit (Indical)                                       | 1                    |
| IndiMagPathogen IM48 Cartidge                                        | 1                    |
| Maxuell RSC viral TNA                                                | 1                    |
| Promega                                                              | 1                    |
| Promega Maxwell Kit:RSC Blood lotto 145361                           | 1                    |
| Zinexts MagPurix Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit B       | 1                    |
| <b>Totale complessivo</b>                                            | <b>20</b>            |

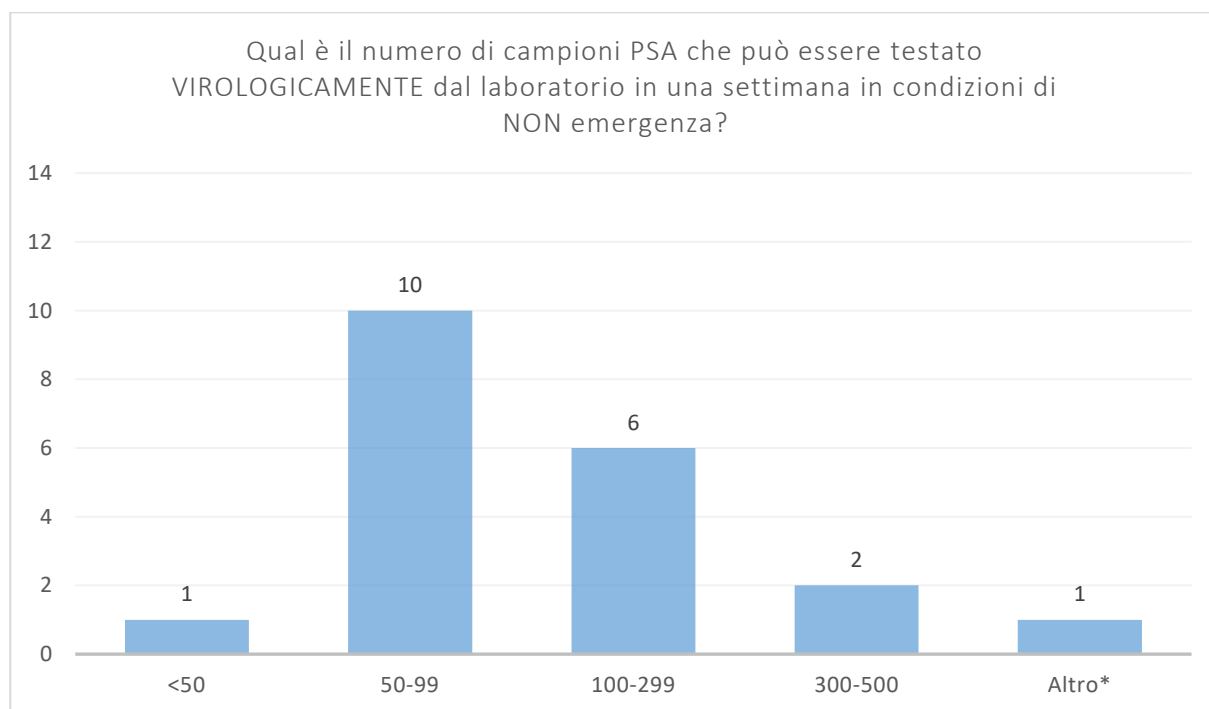
**Tabella 10. Protocollo di Real Time PCR PSA utilizzato dai partecipanti.**

| <b>Protocollo PCR</b>                                                                                                                                   | <b>Numero Laboratori</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Real Time PCR (King et al., 2003) WOH Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2023, cap 3.9.1., par. B.1.3.3 King et al., 2003) | 10                       |
| ALTRO (ID Gene African Swine Fever Triplex - ID.Vet)                                                                                                    | 4                        |
| ID Gene African Swine Fever Duplex - ID.Vet                                                                                                             | 3                        |
| Real Time PCR UPL - WOH Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2023, par. B.1.3.4. (Fernandez-Pinero et al., 2013)             | 2                        |
| virotype ASFV PCR Kit - INDICAL BIOSCIENCE                                                                                                              | 1                        |
| <b>Totale complessivo</b>                                                                                                                               | <b>20</b>                |

## Risultati del questionario

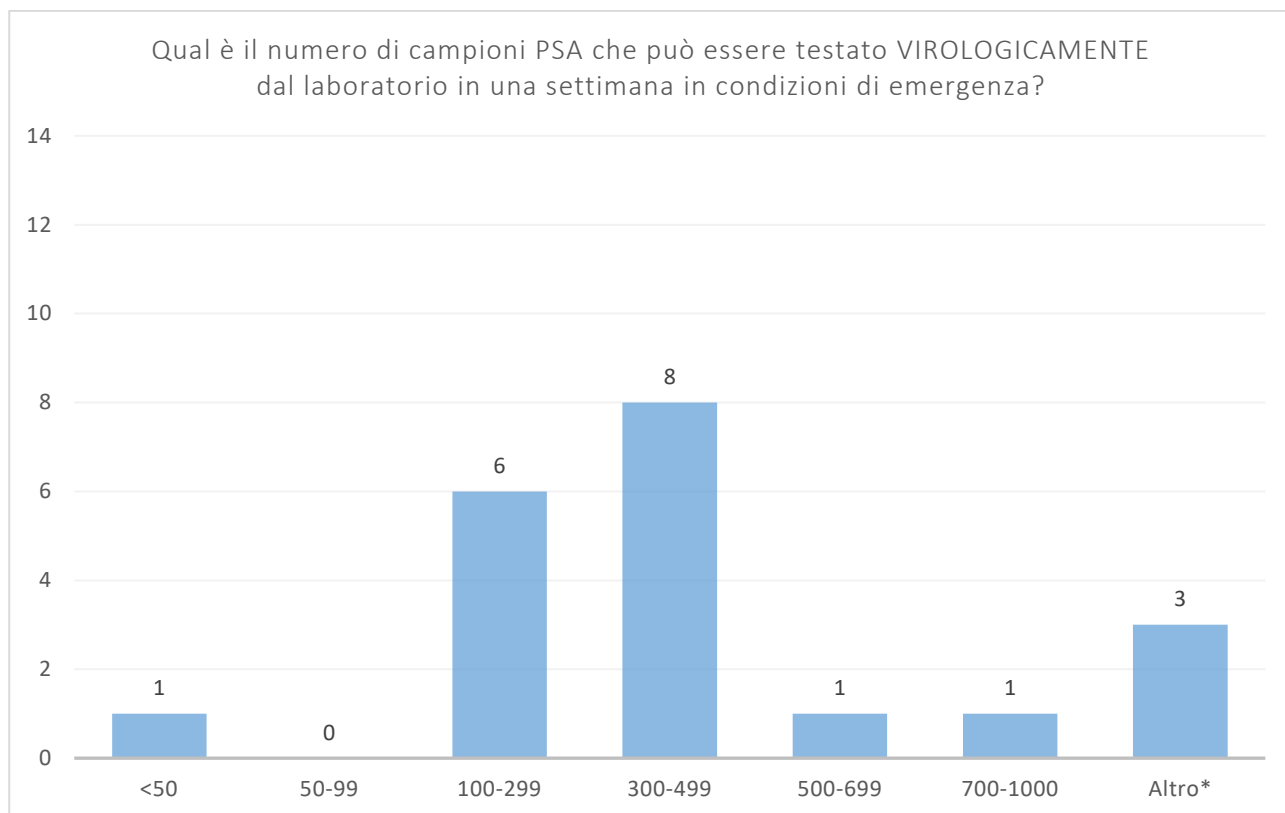
Di seguito sono riportati i risultati del questionario somministrato ai laboratori che prendevano parte al circuito interlaboratorio per la diagnosi delle pesti suine. Ogni rispondente corrisponde ad un laboratorio con specifico codice.

L'85% dei laboratori è in grado di analizzare virologicamente fino a 299 campioni a settimana in condizioni di non emergenza (figura 2), ma in condizioni di emergenza almeno il 50% dei laboratori è in grado di analizzare più di 300 campioni a settimana (figura 3). Dal punto di vista sierologico, la prova è eseguita in condizioni di non emergenza dal 35% dei laboratori, mentre in condizioni di emergenza dal 45% e, anche in questo caso, in condizioni di emergenza il numero di campioni testabili a settimana è maggiore (figure 4 e 5). Il discostamento del numero di risposte nella categoria "altro" per le domande 3 e 4, ovvero 13 risposte altro per la domanda 3 e 11 risposte "altro" per la domanda 4, risiede nel fatto che due partecipanti alla domanda 4 hanno indicato un numero potenziale di campioni analizzabili in situazione di emergenza. Nel 70% dei laboratori esiste una procedura di emergenza che dispone le misure da attuare per sostenere l'improvviso aumento del carico di lavoro per il laboratorio in caso di emergenza PSA (figura 6).



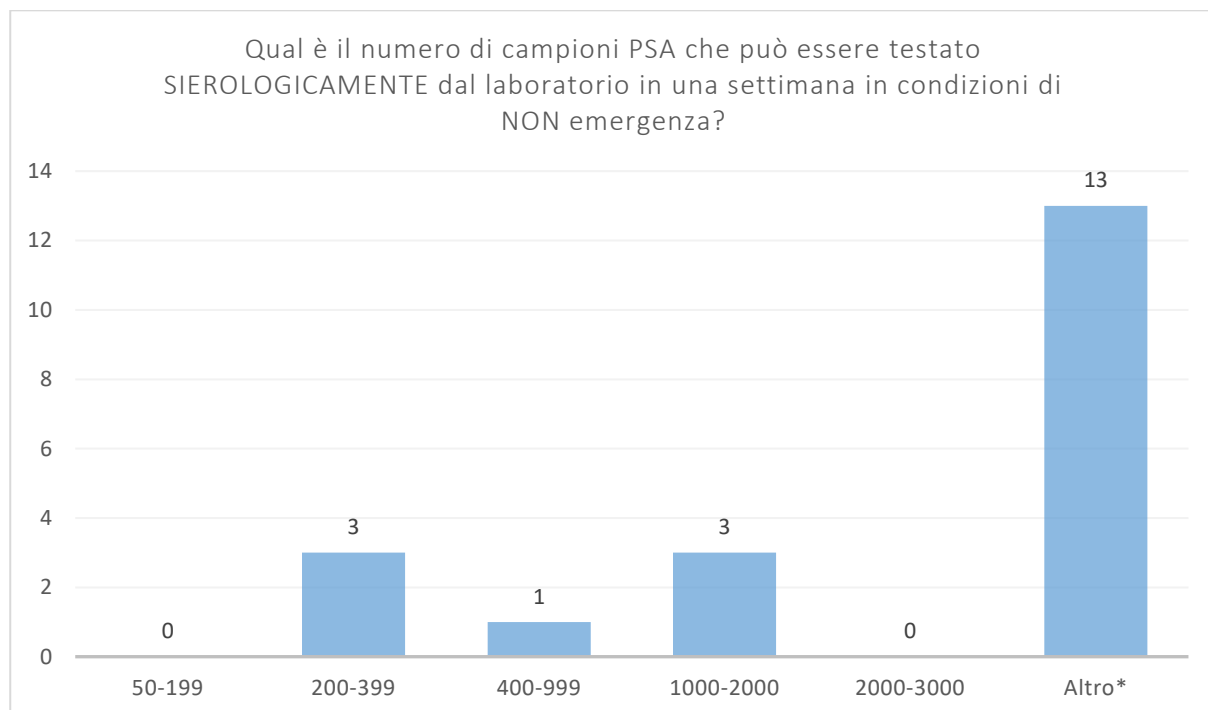
**Figura 2. distribuzione delle risposte alla domanda 1**

\*il laboratorio PSA è in fase di allestimento



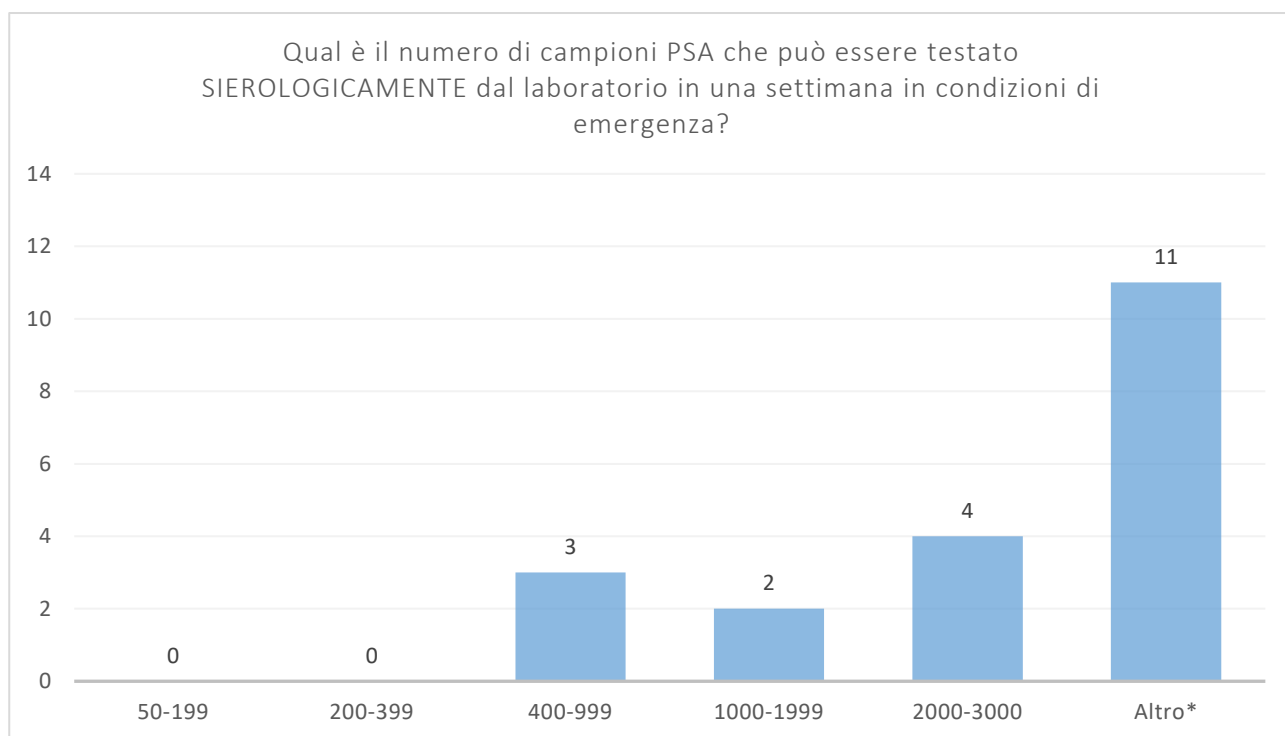
**Figura 3. distribuzione delle risposte alla domanda 2**

\*1 laboratorio in fase di allestimento, 2 laboratori con range di risultato diversi da quelli indicati nel questionario



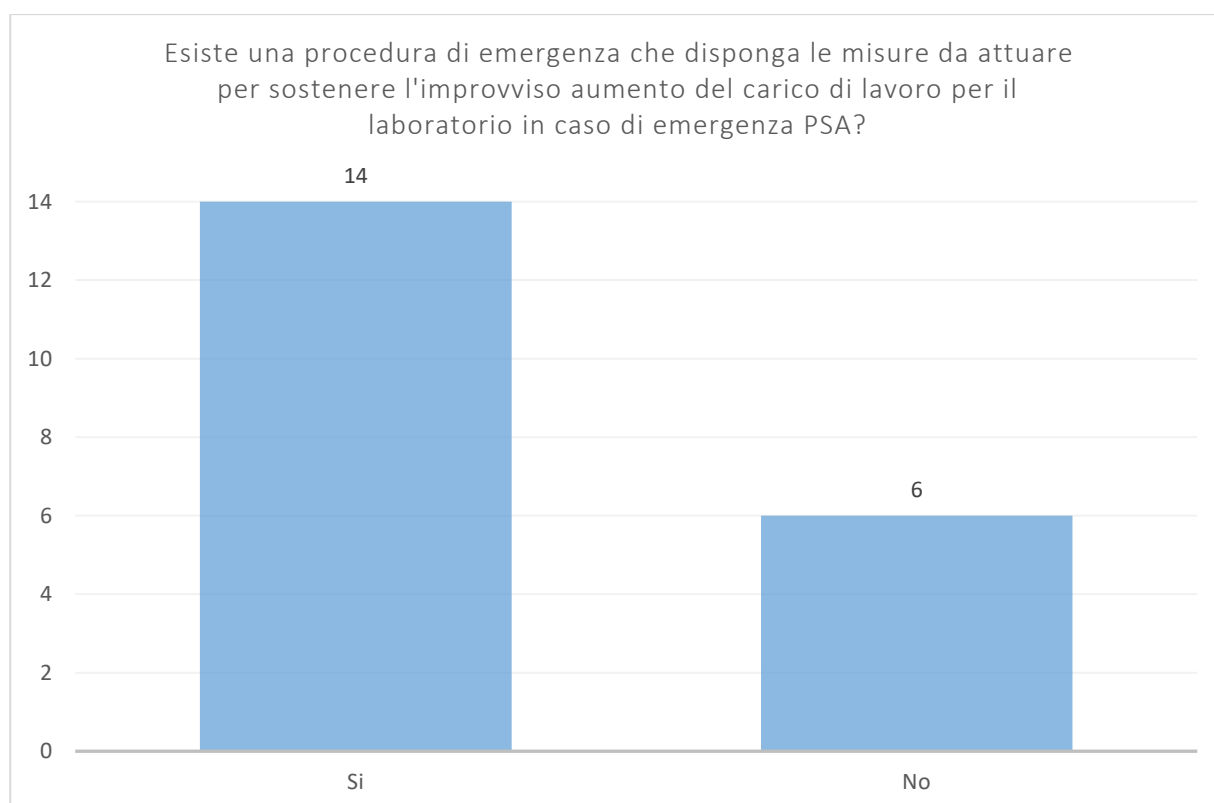
**Figura 4. distribuzione delle risposte alla domanda 3.**

\*la prova non viene eseguita



**Figura 5. distribuzione delle risposte alla domanda 4**

\*la prova non viene eseguita



**Figura 6. distribuzione delle risposte alle domande 5.**

**Tabella 11. Risposte alla domanda numero 5 per l'opzione si.**

Se sì, specificare:

|                                                                                                                                                      |   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| Attivazione di una squadra di emergenza interna (operatori del proprio reparto), adeguatamente formati e abilitati                                   | 5 |
| Attivazione di una squadra di emergenza esterna (operatori provenienti da altri reparti), formati e abilitati, da impiegarsi nel proprio laboratorio | 3 |
| Attivazione di un laboratorio supplementare, dotato di risorse (strumentali e umane) autonome e indipendenti dal proprio laboratorio                 | 0 |
| Attivazione di turni di lavoro nei giorni feriali per aumentare la capacità di lavoro della strumentazione                                           | 0 |
| Estensione dell'orario di servizio da 5 a 6 giorni lavorativi                                                                                        | 2 |
| Altro                                                                                                                                                | 4 |

\* Risposte:

- Si prevede di attivare una squadra di emergenza interna (operatori del proprio reparto), adeguatamente formati e abilitati con eventuale estensione dell'orario di servizio da 5 a 6 giorni lavorativi. Tali misure non sono ancora state formalizzate in una procedura scritta, ma già in applicazione nei periodi di emergenza.
- Tutte le misure proposte tranne l'ultima.
- Non è presente una procedura formalizzata, ma in periodi di emergenza il laboratorio è stato supportato da personale proveniente da altri laboratori e/o con l'invio dei campioni verso i laboratori di altre sedi del nostro Istituto.
- Collaborazione con il laboratorio di sede centrale

## Conclusioni

I risultati ottenuti possono ritenersi soddisfacenti a testimonianza del raggiungimento/mantenimento di ottimi livelli di qualità in tutti i laboratori aderenti al presente circuito.

Per quanto riguarda la diagnostica molecolare per le Pesti Suine, sia PSA che PSC, tutti i laboratori hanno fornito risultati conformi all'atteso, a prescindere dalla metodica impiegata.

Per quanto riguarda il questionario, questo ha evidenziato che oltre la metà dei laboratori partecipanti al circuito è in grado di analizzare virologicamente oltre 300 campioni sia in condizioni di emergenza che di non emergenza. Oltre la metà dei laboratori partecipanti ha in essere una procedura di emergenza per far fronte all'improvviso aumento di campioni da analizzare.

Il CEREP mette a disposizione dei partecipanti un servizio di follow-up/assistenza per il quale si potrà fare richiesta allo scopo di mettere in atto eventuali misure correttive/migliorative o per lo sviluppo/adozione di nuovi test diagnostici presso i propri laboratori.

In conclusione, si esprime generale soddisfazione per i risultati raggiunti nell'ambito di questo circuito interlaboratorio, nonché per la disponibilità dimostrata da tutti i partecipanti.

Perugia, 25 Giugno 2024

Francesco Feliziani  
Laboratorio di Referenza Nazionale  
Pesti Suine  
(CEREP)

Responsabile del Circuito interlaboratorio:

Dott. Francesco Feliziani  
Tel.075-3433027  
e-mail: [f.feliziani@izsum.it](mailto:f.feliziani@izsum.it)

Responsabile Scientifico:

Dott.ssa Maria Serena Beato  
Tel.075-343234  
e-mail: [ms.beato@izsum.it](mailto:ms.beato@izsum.it)

Dott.ssa Carmen Iscaro  
Email: [c.iscaro@izsum.it](mailto:c.iscaro@izsum.it)

Responsabili tecnici:

Dott.ssa Cristina Casciari  
Dott.ssa Michela Pela

Responsabile Statistico:

Dott.ssa Carmen Maresca  
UOS VD Osservatorio Epidemiologico,  
e-mail: [c.maresca@izsum.it](mailto:c.maresca@izsum.it)  
Tel.075-343285

Dott. A. Felici  
e-mail: [a.felici@izsum.it](mailto:a.felici@izsum.it)

Segreteria:

[ringtestpestisuine@izsum.it](mailto:ringtestpestisuine@izsum.it)

***Ringraziamenti***

*Si ringraziano quanti hanno contribuito all'organizzazione del circuito interlaboratorio, in particolare il personale della UO Gestione Servizi informatici, per la realizzazione dell'applicativo WEB utilizzato per l'iscrizione, la corrispondenza e il ricevimento dei risultati ottenuti da parte dei singoli laboratori e la dott.ssa Clara Montagnin per il supporto nell'analisi delle risposte del questionario.*