

## **PROVE INTERLABORATORIO A CUI IL LNR HA PARTECIPATO NEL 2018**

### **(PTS) 2018 for Foot-and-Mouth Disease diagnostic methods**

Con riferimento alla partecipazione a prove interlaboratorio per afta, il LNR partecipa regolarmente al Proficiency Test (PT) internazionale, organizzato annualmente dal Community Reference Laboratory/World Reference Laboratory (FMD EURL/WRL), che ha sede presso The Pirbright Institute, UK.

Nome della Prova Interlaboratorio:

### **Proficiency Testing Scheme (PTS) 2018 for Foot-and-Mouth Disease diagnostic methods**

I PT annuali sono organizzati congiuntamente per AFTA e MVS, comportano l'analisi di campioni, differenziati in pannelli per prove virologiche e sierologiche, e richiedono una diagnosi differenziale con interpretazione finale sul risultato per ciascun test individualmente e nel loro insieme. Quindi, questa tipologia di proficiency tests verifica sia le performance del laboratorio relativamente a singoli test utilizzati, sia la capacità di interpretare correttamente i risultati ottenuti nella complessità delle situazioni simulate (diagnosi differenziale e nel caso di afta vaccinazione e/o infezione con quale sierotipo).

I campioni per il PTS 2018 sono pervenuti al CERVES alla fine di settembre 2018, con richiesta di produrre i risultati entro gennaio 2019, pertanto come di consueto l'esito del PT sarà comunicato durante il 2019.

### **Matrici**

Pannello 1: Outbreak scenarios of vesicular diseases (including FMD and SVD)

N. 6 campioni di omogenato di epitelio vescicolare da tre diversi allevamenti (1a bovini, 1b suini, 1c suini) con presenza di lesioni vescicolari (scenari simulato), per test di isolamento in colture cellulari con identificazione degli isolati, test molecolari (RT-PCR) e identificazione/caratterizzazione degli agenti identificati tramite sequenziazione del gene codificante la VP1.

Pannello 2: Quality Assurance, con l'obiettivo di verificare la capacità dei laboratori di riconoscere i ceppi di virus dell'afta più recenti che possono minacciare l'UE ed altre regioni.

N. 5 campioni bovini, simulazione di omogenato di epitelio vescicolare, negativi o contaminati con virus aftosi di vari sierotipi e topotipi, da sottoporre a test ELISA e RT-PCR, finalizzati alla dimostrazione di antigeni (con sierotipizzazione) e genoma virali di virus aftosi.

Pannello 3: Serological samples, continuation of outbreak scenarios for vesicular diseases.

N. 4 sieri bovini correlati alle situazioni epidemiologiche emergenti dal pannello 1, da sottoporre a prove sierologiche per afta, in particolare ELISA-NSP, ELISA-SP e Sieroneutralizzazione per anticorpi tipo-specifici. L'obiettivo è di indicare se gli animali sono infetti o vaccinati, e con quale sierotipo, scegliendo le prove diagnostiche adeguate allo scenario emerso dal pannello 1.

Pannello 4. Quality Assurance, con l'obiettivo di verificare la performance dei test utilizzati dai laboratori nel riconoscere anticorpi specifici verso i diversi sierotipi aftosi.

N. 4 sieri bovini per prove sierologiche afta (ELISA-NSP, ELISA-SP, Sieroneutralizzazione, vari sierotipi).

Pannello 5: Quality Assurance, con l'obiettivo di verificare la performance dei test utilizzati dai laboratori nel riconoscere anticorpi specifici verso il virus della malattia Vescicolare del Suino (MVS).

N. 3 sieri suini per prove sierologiche MVS (ELISA competitiva di screening, ELISA IgG/IgM, Sieroneutralizzazione).

### **Analiti**

Pannello 1: virus infettanti afta e MVS, genoma virale, sequenza VP1 dei virus identificati

Pannello 2: antigeni e genoma virus aftosi

Pannello 3: anticorpi anti-NSP e anti-SP di sierotipi aftosi connessi allo scenario del pannello 1

Pannello 4: anticorpi anti-NSP e anti-SP dei virus aftosi, diversi sierotipi.

Pannello 5: anticorpi anti-MVS

### **Luogo e periodo di svolgimento**

Luogo: presso il CERVES/LNR afta e MVS, IZSLER Brescia, Laboratori BSL3+.

Periodo di esecuzione delle prove: Ottobre-Novembre 2018.

### **Numero e tipo di laboratori partecipanti**

Laboratori Nazionali di riferimento di 70 paesi: tutti gli stati membri EU (n. 27), oltre ad alcuni Paesi extra-CEE e tutti i Laboratori internazionali di riferimento OIE/FAO.

### **Follow up e Valutazione complessiva**

Lo scopo del PTS Afta/MVS 2018 ha incluso, oltre che alla verifica delle performance delle varie prove diagnostiche finalizzata al mantenimento dei requisiti di Qualità, anche la verifica dei Piani Nazionali di emergenza: ai laboratori è stato chiesto di descrivere e applicare il flusso diagnostico coerente col Piano di emergenza nazionale, utilizzando una selezione di test appropriati, sulla base degli ipotetici scenari comunicati, per la rapida conferma di focolaio con diagnosi differenziale Afta/MVS e interpretarne i risultati. Inoltre, ai laboratori in grado di effettuare caratterizzazioni più approfondite è stata richiesta anche l'identificazione dei ceppi virali isolati dal pannello 1, utilizzando tecniche di sequenziazione genomica seguite da analisi filogenetica.

Per il mantenimento dei requisiti di Qualità, il Proficiency Test ha contemplato anche la verifica della capacità dei test virologici in uso nel riconoscimento e identificazione delle varianti virali recentemente emerse, la verifica della capacità dei test sierologici di identificare anticorpi verso diversi sierotipi aftosi distinguendo animali infetti da animali vaccinati, e la verifica delle performance dei test sierologici per il virus MVS.

Come consuetudine, il EURL/WRL comunicherà i risultati del PT2018 durante il 2019 (solitamente in occasione del meeting annuale dei NRL), mentre nel 2018 sono stati forniti i risultati del PT2017. Il CERVES/LNR è sempre stato tra i pochi laboratori europei in grado di dare risposta a tutte le prove del ring test ottenendo esiti conformi in tutte le prove, sia nella produzione del dato analitico che nell'interpretazione dei risultati. Dei 27 LNR della UE, solo 12 sono autorizzati a manipolare virus afta e MVS vivi ed hanno quindi eseguito tutti i test diagnostici, compresi quelli virologici e sierologici che comportano l'utilizzo di virus infettanti, e solo 8 hanno identificato gli agenti isolati a livello di sequenziazione.

Tutti i test diagnostici eseguiti dal LNR italiano hanno dato esiti conformi, l'interpretazione dello stato dei campioni sulla base degli scenari definiti è stata corretta, la sequenziazione ed analisi

filogenetica del ceppo di afta isolato hanno correttamente identificato il virus come appartenente al lineaggio O/Ind-2001. Pertanto, le performance dei test eseguiti dal LNR sono ottimali. Di rilievo è anche la scelta di svariati LNR partecipanti di utilizzare nei rispettivi paesi i kit ELISA sviluppati e distribuiti dal LNR italiano.

