

Anno 2016

Risultati XVI Circuito interlaboratorio di sierotipizzazione *Salmonella* spp.

Sommario

1. Introduzione	3
2. Gestione organizzativa e pianificazione	3
3. Sezione SA1 (Circuito di sierotipizzazione di <i>Salmonella</i> spp.)	4
3.1 Partecipanti	4
3.2 Materiali e Metodi	4
4. Spedizione del materiale	5
5. Risultati	5
5.1 Espressione dei risultati	5
5.2 Risultati dei singoli laboratori partecipanti	5
5.3 Risultati per ceppo testato	8
6. Valutazione della performance	11
7. Analisi dei risultati dei circuiti interlaboratorio effettuati dal 2014 al 2016	11
8. Elaborazione statistica	13
8.1 Analisi della concordanza	13
9. Sezione SA2 (Circuito sierotipizzazione "Short")	15
9.1 Partecipanti	15
9.2 Materiali e metodi	15
10. Spedizione del materiale	15
11. Risultati	16
11.1 Espressione dei risultati	16
11.2 Risultati dei singoli laboratori partecipanti	16
11.3 Risultati per ceppo testato	19
12. Valutazione della performance	21
13. Analisi dei risultati dei circuiti interlaboratorio (SA2) effettuati dal 2014 al 2016	21
14. Analisi della concordanza	23
15. Conclusioni	25
Riferimenti	26

Sommario Tabelle

Tab. 1 - Calendario attività	3
Tab. 2 - Formule antigeniche dei ceppi di <i>Salmonella</i> spp. utilizzati (schema di Kauffmann-White 2007)	4
Tab. 3 - Espressione dei risultati	5
Tab. 4 - Risultati della sierotipizzazione per laboratorio	6
Tab. 5 - Risultati della sierotipizzazione per ceppo	8
Tab. 6 - Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione (n.i: non identificato)	9
Tab. 7 - Penalità per ciascun laboratorio partecipante	11
Tab. 8 - Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante	13
Tab. 9 - Scala di Landis & Koch	14

Tab. 10 - Formule antigeniche dei ceppi di <i>Salmonella</i> spp. utilizzati [SA2](schema di Kauffmann-White 2007).....	15
Tab. 11 - Espressione dei risultati [SA2] - (S.E: S. Enteritidis; S.T: S. Typhimurium; STV: Variante Monofasica di S. Typhimurium)	16
Tab. 12 - Risultati della sierotipizzazione per laboratorio partecipante [SA2]	17
Tab. 13 - Risultati della sierotipizzazione per ceppo [SA2]	19
Tab. 14 - Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione [SA2].....	19
Tab. 15 - Penalità [SA2].....	21
Tab. 16 - Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante [SA2].....	23
Tab. 17 - Scala di Landis & Koch [SA2]	23

Sommario Grafici

Grafico 1 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio.....	6
Grafico 2 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio.....	7
Grafico 3 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratori.....	7
Grafico 4 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo	10
Grafico 5 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo	10
Grafico 6 - Risultati identificazione dei sierotipi	11
Grafico 7 - Identificazione corretta dei sierotipi per laboratorio e per circuito	12
Grafico 8 - Identificazione corretta degli antigeni O per laboratorio e per circuito	12
Grafico 9 - Identificazione corretta degli antigeni H per laboratorio e per circuito.....	13
Grafico 10 - Concordanza dei risultati di ciascun laboratorio partecipante con l'esito atteso e concordanza complessiva tra i laboratori.....	14
Grafico 11 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo	14
Grafico 12 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio.....	17
Grafico 13 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio.....	18
Grafico 14 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratorio.....	18
Grafico 15 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo	20
Grafico 16 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo	20
Grafico 17 - Risultati identificazione dei sierotipi	21
Grafico 18 - Sierotipizzazioni complete	22
Grafico 19 - Sierotipizzazione Antigeni O	22
Grafico 20 - Sierotipizzazione Antigeni H	22
Grafico 21 - Performance per laboratorio	24
Grafico 22 - Performance nel tempo	24

1. INTRODUZIONE

Il presente report descrive i risultati relativi al XVI Circuito di sierotipizzazione *Salmonella* spp. edizione 2016 organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS).

Il circuito consta di due schemi distinti:

- **SA1-16** relativo alla sierotipizzazione di **20 ceppi** di *Salmonella* spp.
- **SA2-16** relativo all'identificazione dei sierotipi *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica di *S. Typhimurium* di **10 ceppi** di *Salmonella* spp.

La partecipazione al circuito è rivolta ai laboratori degli Istituti Zooprofilattici del territorio nazionale ed ad altre strutture pubbliche o private.

L'obiettivo principale del presente circuito interlaboratorio è quello di valutare la capacità dei laboratori partecipanti di identificare il sierotipo in isolati di *Salmonella* indipendentemente dalla loro fonte di origine.

Nell'ambito della legislazione europea, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e variante monofasica di *S. Typhimurium* sono riconosciuti come sierotipi rilevanti negli allevamenti avicoli e rappresentano il criterio microbiologico per la carne fresca di pollo, pertanto, per alcuni laboratori, la sierotipizzazione di ceppi di *Salmonella* è mirata all'identificazione esclusiva di questi tre sierotipi.

Per tale ragione si è organizzato uno schema di circuito specifico (SA2) finalizzato alla valutazione della capacità dei partecipanti di identificare tali sierotipi.

2. GESTIONE ORGANIZZATIVA E PIANIFICAZIONE

A fine anno nel sito web dell'IZSve (<http://www.izsvenezie.it/servizi/altri-servizi/circuitointerlaboratorio-aqua/>) sono pubblicati i calendari degli schemi disponibili per l'anno successivo e la relativa Scheda di sicurezza.

A ciascun laboratorio partecipante in fase di iscrizione, dal gestionale Aquaweb, viene assegnato un codice alfa numerico identificativo.

La partecipazione al Circuito Interlaboratorio viene regolamentata dall'iscrizione mediante il gestionale dedicato Aquaweb al quale i partecipanti possono accedere utilizzando le credenziali personali.

Nel gestionale Aquaweb sono presenti i documenti specifici di ciascun schema.

Nel mese di febbraio a tutti i partecipanti è stata inviata dal gestionale la comunicazione relativa alla pubblicazione della pianificazione del circuito con i dettagli delle attività previste:

Si riporta di seguito il calendario di pianificazione degli schemi SA1 e SA2:

Scadenze	Azioni
31.01.2016	Scadenza iscrizioni Aquaweb
Entro 16.02.2016	Invio mail di pianificazione
30.03 - 01.04.16	Spedizione ceppi
A partire dal 11.04.2016	Analisi dei ceppi da parte di ciascun laboratorio partecipante
Entro 06.05.2016 per coloro che partecipano ad una singola sezione (SA1 o SA2)	 Test report da inviare al CRNS
Dal 06.05./2016 al 13.05.2016 per coloro che partecipano ad entrambe le sezioni (SA1 o SA2)	
Entro 30.05.2016	 Controllo risultati e invio risultati da parte del CRS ai partecipanti.

Tab. 1 Calendario attività

I risultati del circuito sono stati inseriti da ciascun partecipante nel Test Report messo a disposizione nel gestionale Aquaweb.

Nel Test Report sono state raccolte anche informazioni relativamente ai sieri utilizzati e al metodo applicato da ciascun partecipante.

3. SEZIONE SA1 (CIRCUITO DI SIEROTIPIZZAZIONE DI *SALMONELLA* SPP.)

3.1 PARTECIPANTI

Nel mese di aprile 2016 il Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) ha organizzato il sedicesimo circuito di sierotipizzazione di *Salmonella* spp. a cui hanno preso parte 2 laboratori privati e 9 laboratori afferenti ad Istituti Zooprofilattici, ciascuno dei quali è stato identificato con un codice numerico assegnato arbitrariamente.

3.2 MATERIALI E METODI

Ai singoli partecipanti sono stati inviati 20 ceppi di *Salmonella* spp. da sottoporre a sierotipizzazione.

I ceppi utilizzati per il circuito, provenienti dalla collezione del Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS), includevano per lo più isolati ricevuti dal Laboratorio Comunitario di Riferimento di Bilthoven (NL) in occasione dei circuiti interlaboratorio.

La selezione dei ceppi da includere nel circuito è stata condotta considerando prevalentemente i sierotipi d'interesse epidemiologico, quelli per cui si è registrato un incremento nelle prevalenze. La scelta inoltre degli isolati è stata effettuata per garantire una certa variabilità in termini di antigeni somatici e flagellari espressi.

Nella tabella 2 sono riportate le formule antigeniche dei ceppi testati.

Ceppo N.	Sierotipo	Antigene O	Antigene H
1	S. Infantis	6,7	r:1,5
2	S. Virchow	6,7	r:1,2
3	S. Muenster	3,10,15	e,h:1,5
4	S. Enteritidis	9	g,m :-
5	S. Typhimurium	4, 5	i:1,2
6	S. Agama	4	i:1,6
7	S. Agona	4	f,g,s:-
8	S. Emek	8,20	g,m,s:-
9	S. Meleagridis	3,10	e,h:l,w
10	S. Jerusalem	6,7	z ₁₀ :l,w
11	S. Corvallis	8,20	z ₄ ,z ₂₃ :-
12	Variante Monofasica di S. Typhimurium	4,5	i :-
13	S. Irumu	6,7	l,v:1,5
14	S. Cubana	13,23	z ₂₉ :-
15	S. Hadar	6,8	z ₁₀ :e,n,x
16	S. Eastbourne	9	e,h:1,5
17	S. Eboko	6,8	b:1,7
18	S. Anatum	3,10,15	e,h:1,6
19	S. Napoli	9	l,z ₁₃ :e,n,x
20	S. Paratyphi B (var.Java)	4, 5	b: 1,2

Tab. 2 - Formule antigeniche dei ceppi di *Salmonella* spp. utilizzati (schema di Kauffmann-White 2007)

Ai partecipanti è richiesto di sierotipizzare i campioni di prova secondo le rispettive procedure in uso presso il laboratorio.

4. SPEDIZIONE DEL MATERIALE

I campioni prova del circuito sono stati confezionati per il trasporto di materiale biologico e inviati alla temperatura di refrigerazione.

I laboratori non hanno segnalato anomalie al momento del ricevimento dei campioni.

5. RISULTATI

La presente sezione del report si articola nelle seguenti parti:

- espressione dei risultati;
- descrizione dei risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti;
- descrizione dei risultati relativi a ciascun ceppo;
- valutazione della performance;
- confronto tra i risultati ottenuti dai partecipanti nei ring trial organizzati dal 2014 al 2016;
- valutazione statistica delle “performance” dei singoli laboratori partecipanti.

5.1 ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Per ciascun ceppo in esame è stato richiesto ai partecipanti di indicare il sierotipo identificato con l'evidenza dell'antigene somatico e degli antigeni ciliari riscontrati (Tabella3).

Ceppo	Sierotipo	Antigene O	Antigene H
N.	nome	Somatici evidenziati	Ciliari evidenziati

Tab. 3 - Espressione dei risultati

5.2 RISULTATI DEI SINGOLI LABORATORI PARTECIPANTI

Nella tabella 4 sono riportati i risultati della sierotipizzazione ripartiti per laboratorio partecipante.

Cinque laboratori (codici L366; L426; L449; L475; L539) hanno tipizzato correttamente 19 ceppi su 20, un laboratorio 18 ceppi su 20 (L582), un laboratorio (L646) 17 ceppi su 20, mentre i rimanenti quattro (codice L452; L453; L472; L474;) hanno tipizzato correttamente tutti i ceppi.

Nel complesso, per quanto riguarda gli antigeni somatici, si è riscontrata 1 identificazione non corretta, mentre nella tipizzazione degli antigeni ciliari vi sono state 8 identificazioni non corrette e 1 identificazione non completa

Il 99.54% degli antigeni somatici, il 96.3% degli antigeni ciliari e il 96.0% dei sierotipi sono stati tipizzati correttamente.

I grafici 1, 2 e 3 riassumono i risultati ottenuti dai singoli laboratori per quanto riguarda rispettivamente la tipizzazione degli antigeni somatici, ciliari e l'identificazione dei sierotipi.

Codice lab	Antigeni somatici			Antigeni ciliari			Sierotipo		
	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo
L366	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L426	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L449	20	0	0	19	0	1	19	0	1
L452	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L453	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L472	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L474	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L475	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L539	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L582	19	1	0	19	1	0	18	2	0
L646	20	0	0	17	3	0	17	3	0

Tab. 4 - Risultati della sierotipizzazione per laboratorio

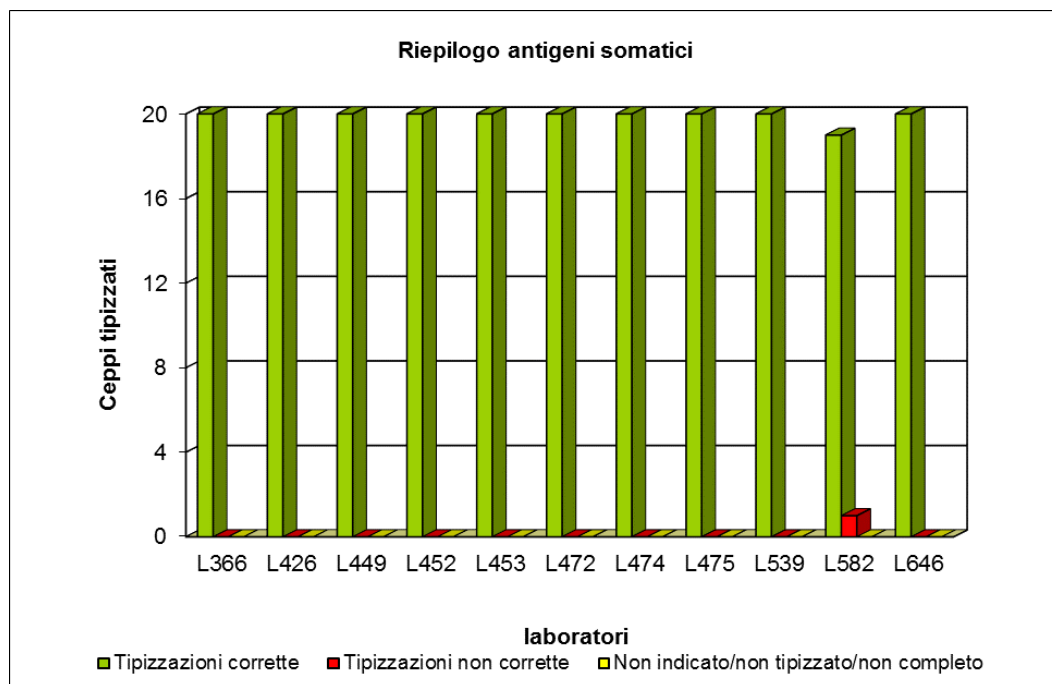


Grafico 1 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio

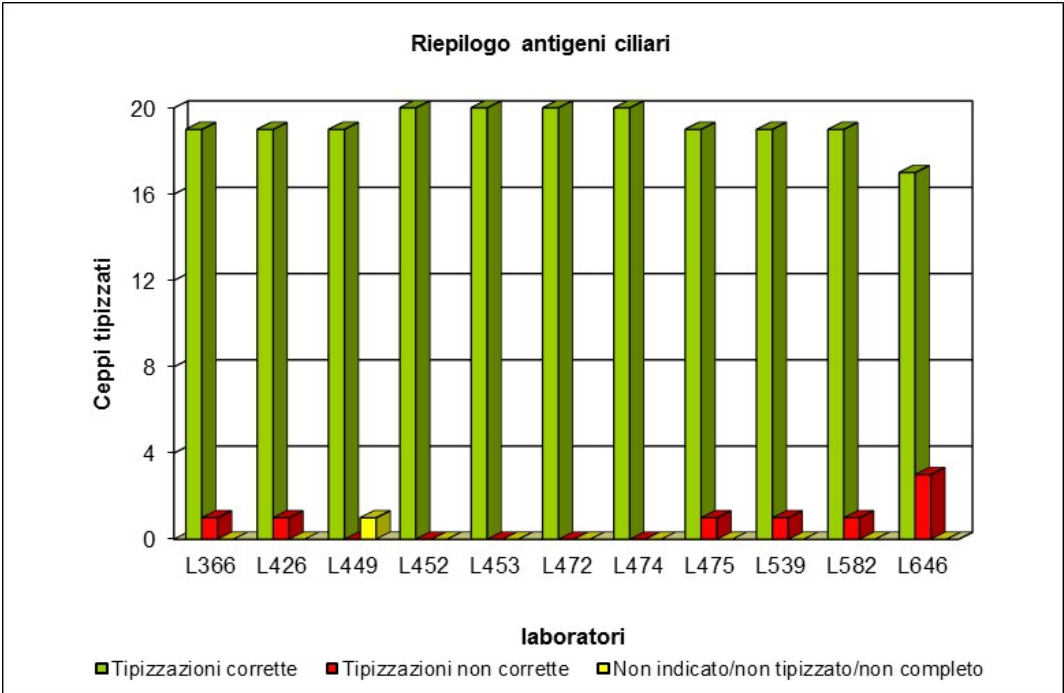


Grafico 2 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio

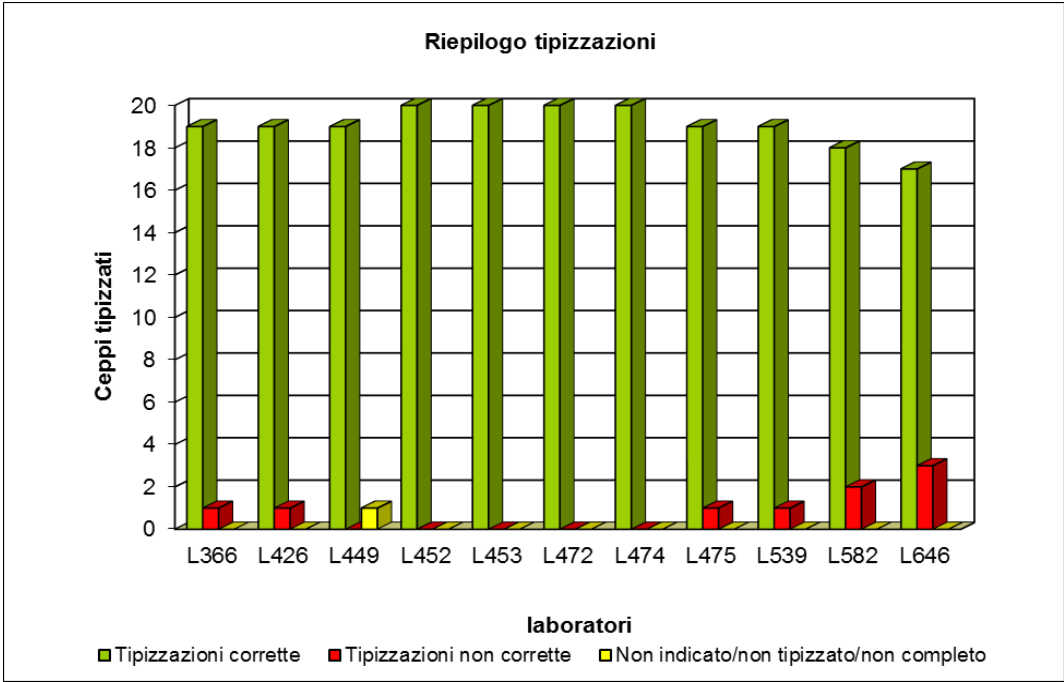


Grafico 3 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratori

5.3 RISULTATI PER CEPPLO TESTATO

I risultati della sierotipizzazione espressi per ceppo sono riportati in Tabella 5.

Tredici dei venti ceppi testati sono stati tipizzati in modo corretto da tutti gli undici laboratori partecipanti.

	Antigeni somatici		Antigeni ciliari		Sierotipizzazione	
	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta
S. Infantis	11	0	11	0	11	0
S. Virchow	11	0	11	0	11	0
S. Muenster	11	0	10	1	10	1
S. Enteritidis	11	0	11	0	11	0
S. Typhimurium	11	0	11	0	11	0
S. Agama	11	0	11	0	11	0
S. Agona	11	0	11	0	11	0
S. Emek	11	0	11	0	11	0
S. Meleagridis	11	0	10	1	10	1
S. Jerusalem	11	0	11	0	11	0
S. Corvallis	11	0	9	2	9	2
Variante Monofasica di S. Typhimurium	11	0	11	1	10	1
S. Irumu	11	0	8	3	8	3
S. Cubana	11	0	11	0	11	0
S. Hadar	11	0	11	0	11	0
S. Eastbourne	11	0	11	0	11	0
S. Eboko	11	0	11	0	11	0
S. Anatum	10	1	11	0	10	1
S. Napoli	11	0	10	1	10	1
S. Paratyphi B (var. Java)	11	0	11	0	11	0

Tab. 5 - Risultati della sierotipizzazione per ceppo

I sierotipi per i quali sono emersi problemi d'identificazione sono stati: S. Muenster (ceppo n. 3), S. Meleagridis (ceppo n.9), S. Corvallis (ceppo n. 11), Variante monofasica di S. Typhimurium (ceppo n.12) S. Irumu, (ceppo n. 13), S. Anatum (ceppo n.18) e S. Napoli (ceppo n.19).

Nella tabella 6 vengono elencati gli errori di ciascun laboratorio partecipante associati ai sierotipi per i quali si sono verificati problemi d'identificazione.

N. ceppo	Sierotipo	Antigeni O	Antigeni H	Codice laboratorio
S3	S. Muenster	3,10,15	e,h:1,5	CRNS
	S. Lamberhurst	3,10	e,n,z15	L582
S9	S. Meleagridis	3,10	e,h:l,w	CRNS
	S. Anatum	3,10	e,h: 1,6	L426
S11	S. Corvallis	8,20	z4,z23: -	CRNS
	S. Dabou	8,20	z4,z23:l,w	L366
	n.i	8,20	z4,z23: -	L449
S12	Variante monofasica di S. Typhimurium	4,5	i : -	CRNS
	S.Lagos	4,5	i : 1,6	L646
S13	S. Irumu	6,7	l,v:1,5	CRNS
	S. Nessziona	6,7	l,z13:1,5	L475
	S. Postdam	6,7	l,v:e,n,z15	L539
	S. Colorado	6,7	l,w: 1,5	L646
S18	S. Anatum	3,10,15	e,h:1,6	CRNS
	S. Hayindogo	1,3,19	e,h:1,6	L582
S19	S. Napoli	9	l,z13: e,n,x	CRNS
	S. Zaiman	9,12	l,v:e,n,x : z16	L646

Tab. 6 - Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione (n.i: non identificato)

Per il ceppo n.3, sierotipo S. Muenster un laboratorio non ha identificato correttamente gli antigeni ciliari.

Per il ceppo n.9 S. Meleagridis un laboratorio non ha identificato correttamente un antigene ciliare.

Per il ceppo n. 11 S. Corvallis un laboratorio non ha identificato correttamente un antigene ciliare, mentre un altro laboratorio ha riportato la formula antigenica con il secondo ciliare negativo con due sierotipi possibili Corvallis e Albany.

Per il ceppo n. 12 Variante monofasica di S. Typhimurium è stato identificato erroneamente la componente ciliare.

Per il sierotipo S. Irumu due laboratori non hanno identificato correttamente un antigene della componente ciliare, e un terzo laboratorio non ha correttamente identificato entrambi gli antigeni.

Per il sierotipo n.18 S. Anatum un laboratorio non ha identificato correttamente la componente somatica.

Infine, per il ceppo n. 19 S. Napoli un laboratorio non ha identificato correttamente gli antigeni ciliari.

I grafici 4, 5 e 6 riassumono i risultati della tipizzazione degli antigeni somatici, ciliari e l'identificazione dei sierotipi dei singoli ceppi.

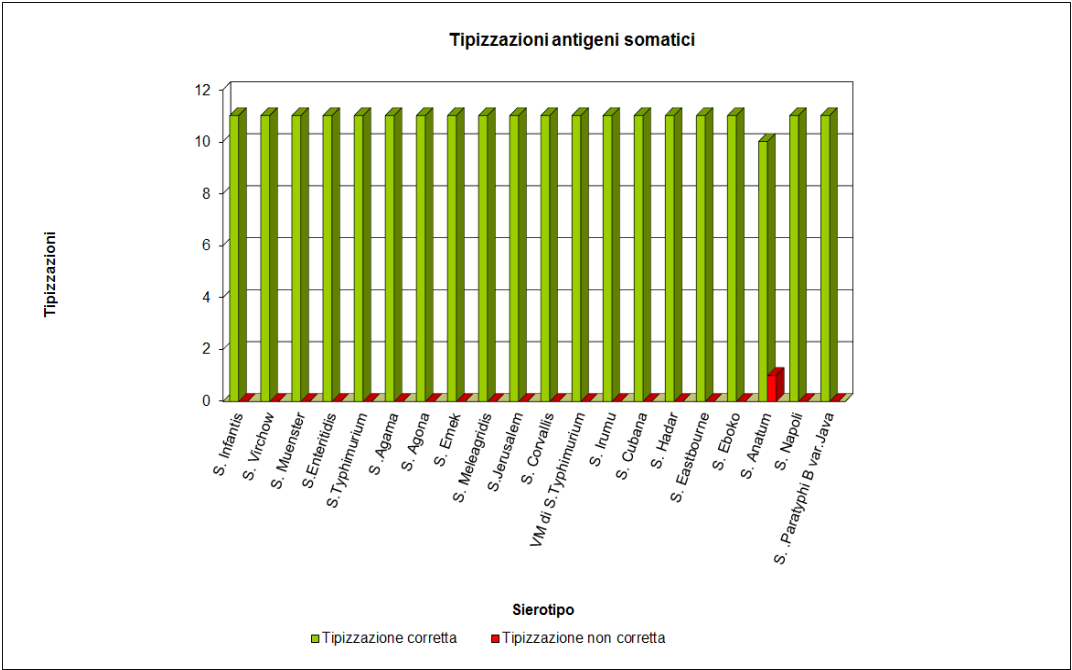


Grafico 4 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo

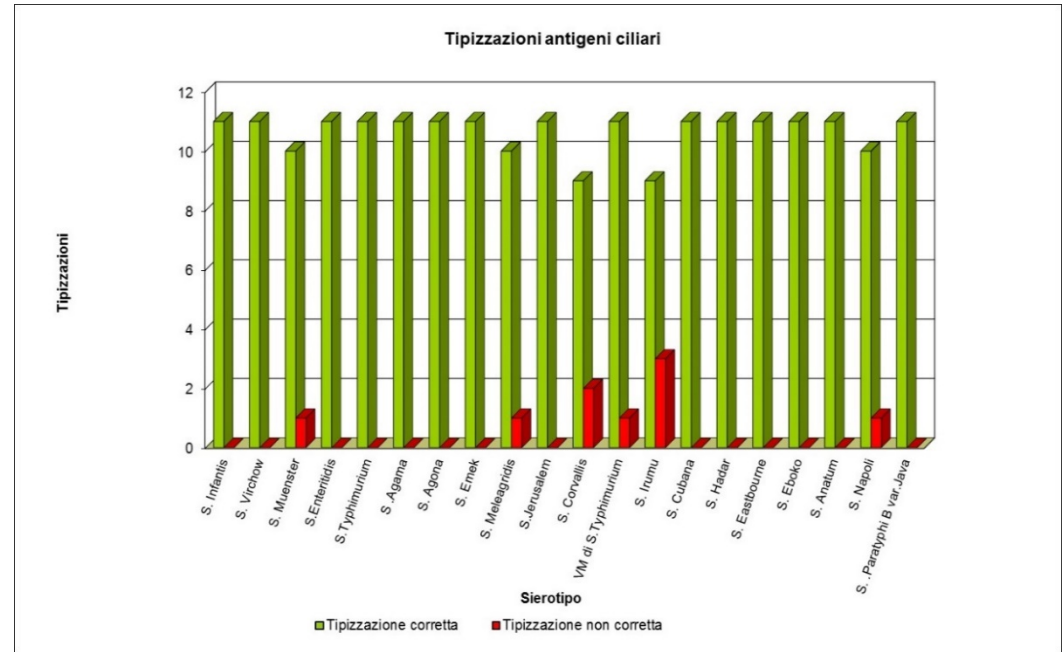


Grafico 5 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo

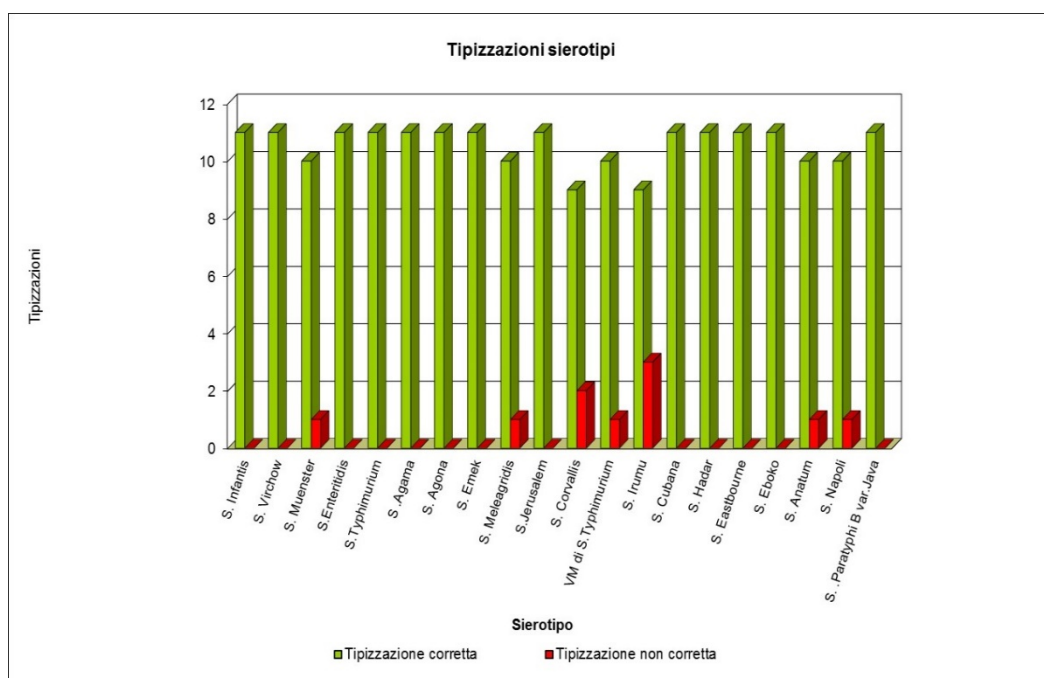


Grafico 6 - Risultati identificazione dei sierotipi

6. VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE

Per valutare il livello di “buona performance” di ciascun partecipante sono stati utilizzati i criteri adottati dal Centro di Referenza Nazionale per *Salmonella* (NRL-*Salmonella*) di Bilthoven, NL, che organizza annualmente il circuito di sierotipizzazione per i centri di referenza nazionali

Sono attribuiti punti di penalità ai ceppi non tipizzati correttamente, distinguendo i ceppi appartenenti ai cinque sierotipi rilevanti, (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, inclusa la variante monofasica di *S. Typhimurium*; *S. Hadar*, *S. Infantis*, *S. Virchow*) da quelli appartenenti a sierotipi diversi.

Nello specifico, sono state attribuite:

- 4 penalità per la tipizzazione non corretta di un ceppo appartenente ad un sierotipo rilevante o per l'assegnazione non corretta del nome di uno di questi cinque sierotipi ad un ceppo appartenente ad un sierotipo diverso;
- 1 penalità per la tipizzazione non corretta di un ceppo appartenente a sierotipi differenti.

Una “buona performance” è raggiunta se il laboratorio partecipante ottiene un numero di penalità inferiore a quattro, nel caso in cui il circuito preveda l'analisi di almeno 20 ceppi.

Secondo i criteri, sopra descritti, sono riportati di seguito (tabella 7) i punti di penalità relativi ai singoli partecipanti.

Cod. Lab.	L366	L426	L449	L452	L453	L472	L474	L475	L539	L582	L646
Penalità n.	1	1	1	0	0	0	0	1	1	2	6

Tab. 7 – Penalità per ciascun laboratorio partecipante

7. Analisi dei risultati dei circuiti interlaboratorio effettuati dal 2014 AL 2016

Al fine di osservare come si è evoluta nel tempo la capacità dei singoli laboratori partecipanti di sierotipizzare i ceppi di *Salmonella* spp., si sono confrontati i risultati ottenuti nell'ambito dei circuiti di sierotipizzazione effettuati del triennio 2014 - 2016 (XIV 2014; XV 2015 XVI 2016).

I dati si riferiscono ai laboratori afferenti agli Istituti Zooprofilattici Sperimentali.

I grafici 7, 8 e 9 mostrano i risultati suddivisi rispettivamente per sierotipizzazioni complete corrette, sierotipizzazioni antigeni O e sierotipizzazione antigeni H.

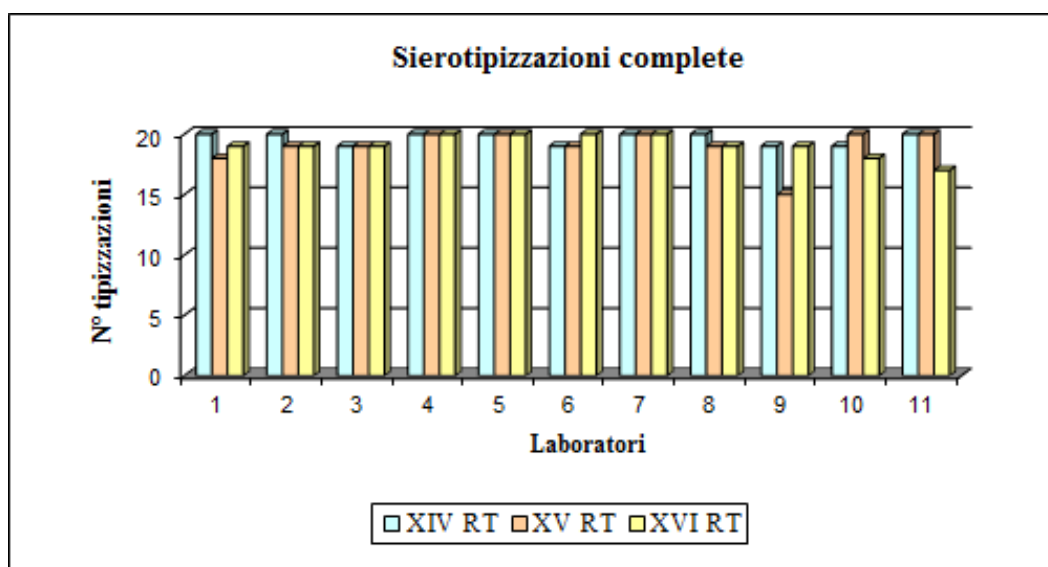


Grafico 7 - Identificazione corretta dei sierotipi per laboratorio e per circuito

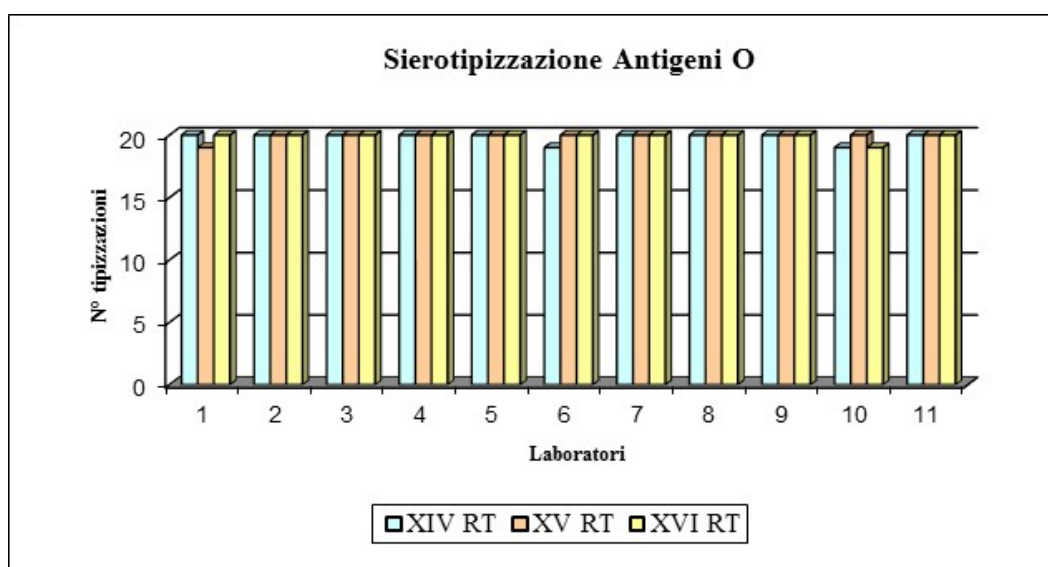


Grafico 8 - Identificazione corretta degli antigeni O per laboratorio e per circuito

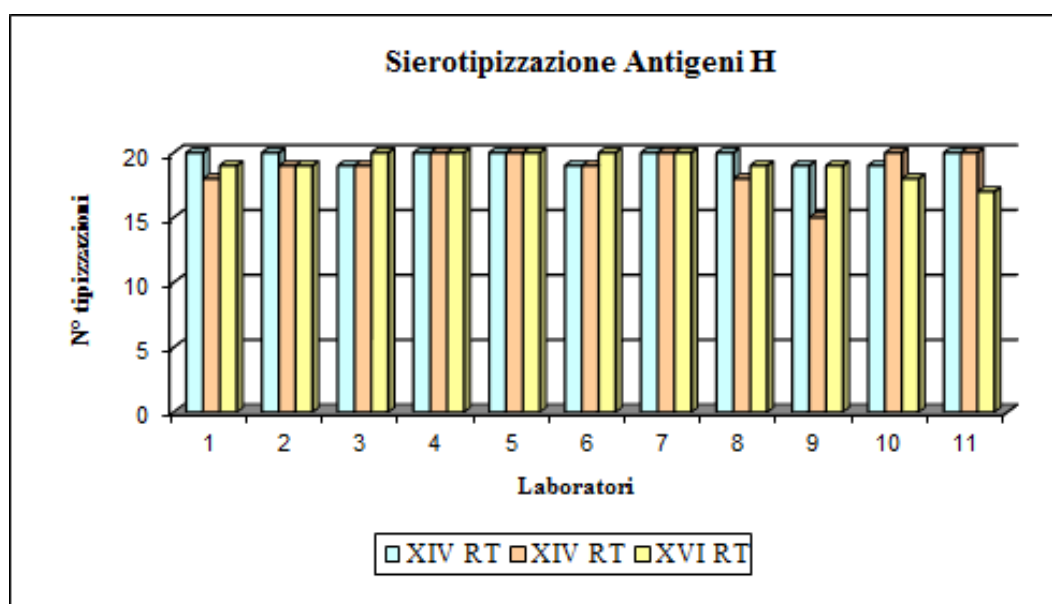


Grafico 9 - Identificazione corretta degli antigeni H per laboratorio e per circuito.

8. ELABORAZIONE STATISTICA

8.1 ANALISI DELLA CONCORDANZA

Per ogni laboratorio partecipante si è calcolata la statistica K di Cohen, che indica il grado d'accordo tra i risultati forniti dal laboratorio in esame e gli esiti dall'ente organizzatore del circuito. Si è calcolato inoltre il grado di accordo complessivo tra i laboratori partecipanti.

Il valore di K ottenuto per ciascun laboratorio, complessivo e l'interpretazione della statistica con il relativo livello di significatività p-value è riportato in tabella 8.

	L366	L426	L449	L452	L453	L472	L474	L475	L539	L582	L646	K circuito
K	0,9475	0,9474	0,9475	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,9475	0,9475	0,8953	0,8433	0,9112
p-value	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Tab. 8 - Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante

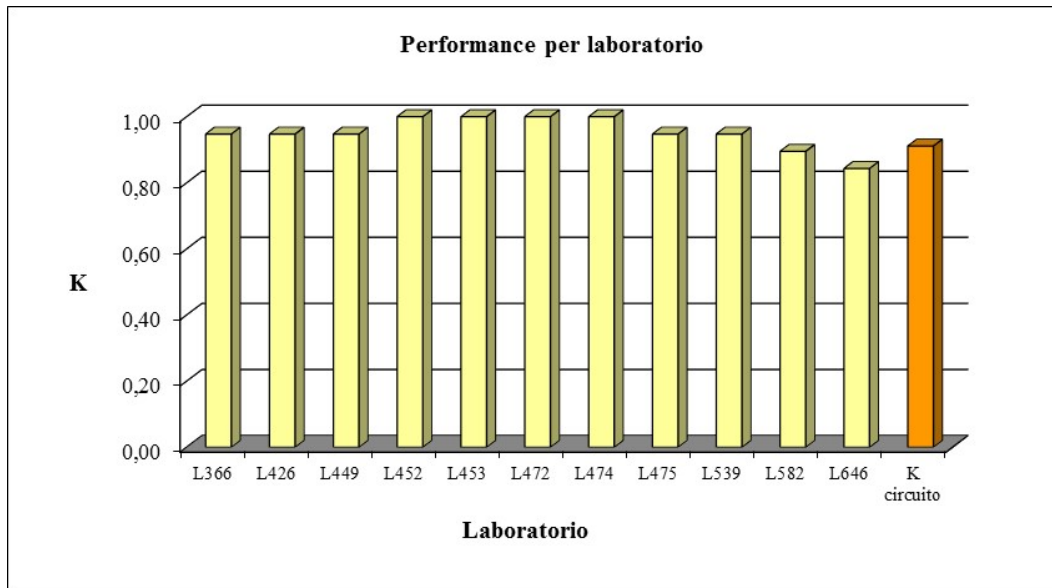


Grafico 10 - Concordanza dei risultati di ciascun laboratorio partecipante con l'esito atteso e concordanza complessiva tra i laboratori

K	Concordanza
≤ 0	Scarsissima
0.01-0.20	Scarsa
0.21-0.40	Discreta
0.41-0.60	Moderata
0.61-0.80	Buona
0.81-1.00	Ottima

Tab. 9 - Scala di Landis & Koch

Confrontando i risultati ottenuti dai singoli laboratori con scala di Landis & Koch (tabella 9), che fornisce un'indicazione per interpretare il livello di concordanza di un laboratorio sulla base del valore K ottenuto, si può concludere che tutti i laboratori partecipanti hanno ottenuto una concordanza tra 0.81-1.00 classificata come "ottima". Valutando i dati complessivi infatti la concordanza dell'intero circuito è risultata pari a 0.9112 (IC95[0.844-0.95]; $p=0.000$) e quindi è stata giudicata come "ottima".

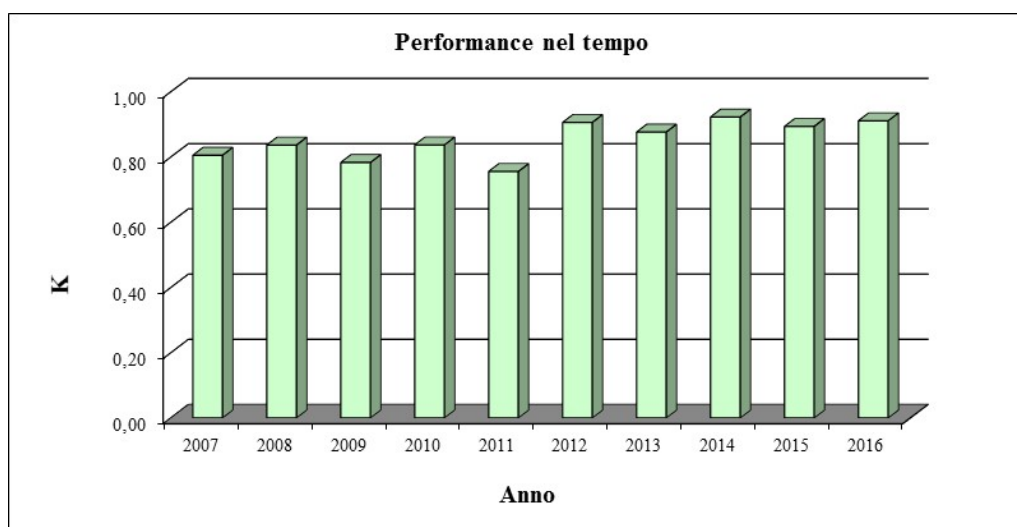


Grafico 11 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo

9. SEZIONE SA2 (CIRCUITO SIEROTIPIZZAZIONE "SHORT")

9.1 PARTECIPANTI

La sezione SA2 del Circuito di sierotipizzazione *Salmonella* spp., XVI edizione 2016 prevedeva l'identificazione esclusiva dei sierotipi di *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica di *S. Typhimurium*.

Tale sezione è rivolta in particolare ai laboratori che, in accordo a quanto previsto dai Regolamenti Comunitari, devono provvedere ad escludere o confermare la presenza di tali sierotipi considerati rilevanti per la salute pubblica.

A tale sezione hanno partecipato 3 laboratori privati e 3 laboratorio afferenti agli Istituti Zooprofilattici, ciascuno dei quali è stato identificato con un codice numerico assegnato arbitrariamente.

9.2 MATERIALI E METODI

Ai partecipanti sono stati inviati 10 ceppi di *Salmonella* spp. della collezione del Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) da sottoporre a sierotipizzazione.

Nella tabella seguente sono riportati i sierotipi testati.

Ceppo N.	Sierotipo	Antigene O	Antigene H
1	<i>S. Agama</i>	4	i:1,6
2	<i>S. Typhimurium</i>	4, 5	i:1,2
3	Variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>	4,5	i :-
4	<i>S. Lagos</i>	4	i : 1,5
5	Variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>	4,5	i :-
6	<i>S. Enteritidis</i>	9	g,m :-
7	<i>S. Gallinarum</i> biovar Pullorum	9	-:-
8	<i>S. Virchow</i>	6,7	r :1,2
9	<i>S. Enteritidis</i>	9	g,m :-
10	<i>S. Typhimurium</i>	4, 5	i:1,2

Tab. 10 - Formule antigeniche dei ceppi di *Salmonella* spp. utilizzati [SA2](schema di Kauffmann-White 2007)

Ai partecipanti era richiesto di sierotipizzare i campioni di prova secondo le rispettive procedure in uso presso il laboratorio.

10. SPEDIZIONE DEL MATERIALE

I campioni prova del circuito sono stati confezionati per il trasporto di materiale biologico e inviati alla temperatura di refrigerazione.

I laboratori non hanno segnalato anomalie al momento del ricevimento dei campioni.

Un laboratorio, dopo aver ricevuto i campioni, ha provveduto al congelamento degli stessi e dopo avere segnalato quanto accaduto ha ritenuto opportuno richiedere un nuovo invio.

11. RISULTATI

La presente sezione del report si articola nelle seguenti parti:

- espressione dei risultati;
- risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti;
- risultati ottenuti per ciascun ceppo testato;
- Valutazione della performance;
- valutazione statistica delle “performance” dei singoli laboratori partecipanti.

11.1 ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il circuito SA2 prevede l'identificazione esclusiva dei sierotipi *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica di *S. Typhimurium*.

Ai laboratori partecipanti è stato richiesto di esprimere i risultati secondo le indicazioni riportate nella seguente tabella.

Sierotipo	Antigeni somatici evidenziati	Antigeni flagellari evidenziati
Variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>	4,5	i : - :
<i>S. Enteritidis</i>	9	g,m : -
<i>Salmonella</i> spp. non S.E non S.T non STV; oppure Negativo	/	/
<i>Salmonella</i> Gruppo D non SE; oppure Negativo	/	/
<i>S. Typhimurium</i>	4,5	i : 1,2
<i>Salmonella</i> Gruppo B non ST non STV; oppure Negativo	/	/

Tab. 11 - Espressione dei risultati [SA2] - (S.E: *S. Enteritidis*; S.T: *S. Typhimurium*; STV: Variante Monofasica di *S. Typhimurium*)

11.2 RISULTATI DEI SINGOLI LABORATORI PARTECIPANTI

Nella tabella 12 sono riportati i risultati della sierotipizzazione ripartiti per laboratorio partecipante.

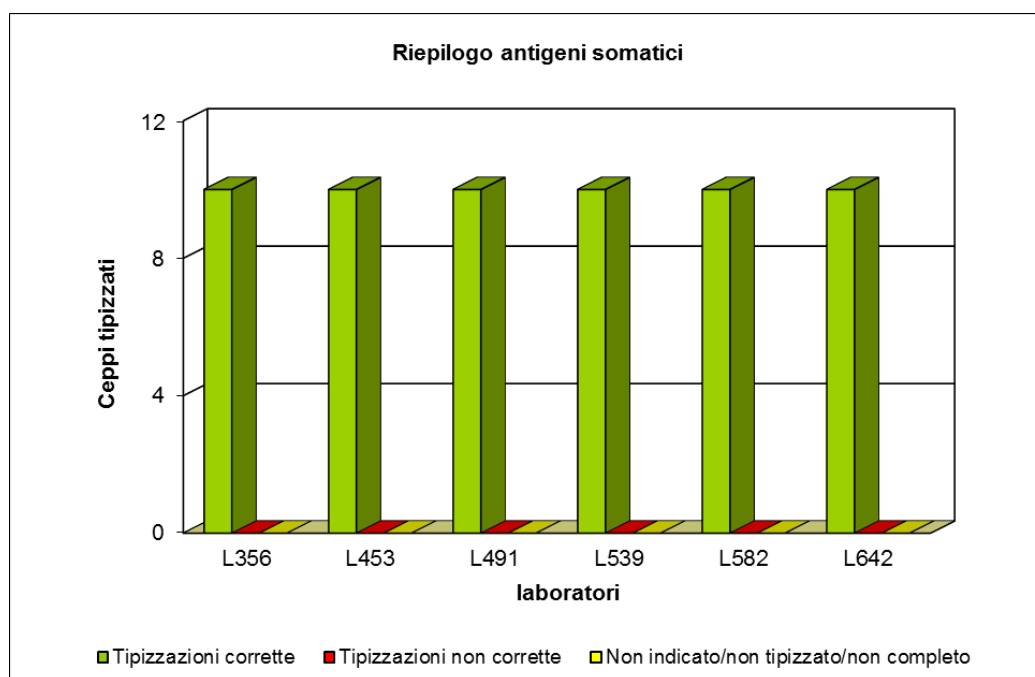
un laboratorio (codici L582;) ha tipizzato correttamente 9 ceppi su 10, mentre i rimanenti cinque laboratori (codice L356; L453; L491; L539; L642) hanno tipizzato correttamente tutti i ceppi.

Per quanto riguarda gli antigeni somatici, le identificazioni da parte di tutti i laboratori partecipanti sono risultate corrette (100%), mentre nella tipizzazione degli antigeni ciliari vi è stato 1 solo errore (1 identificazione non corretta, 98.3%).

Codici lab	Antigeni somatici			Antigeni ciliari			Sierotipo		
	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo
L356	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L453	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L491	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L539	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L582	10	0	0	9	1	0	9	1	0
L642	10	0	0	10	0	0	10	0	0

Tab. 12 - Risultati della sierotipizzazione per laboratorio partecipante [SA2]

I grafici 12, 13, 14 riassumono i risultati ottenuti dai singoli laboratori per quanto riguarda rispettivamente la tipizzazione degli antigeni somatici, ciliari e l'identificazione dei sierotipi.


Grafico 12 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio

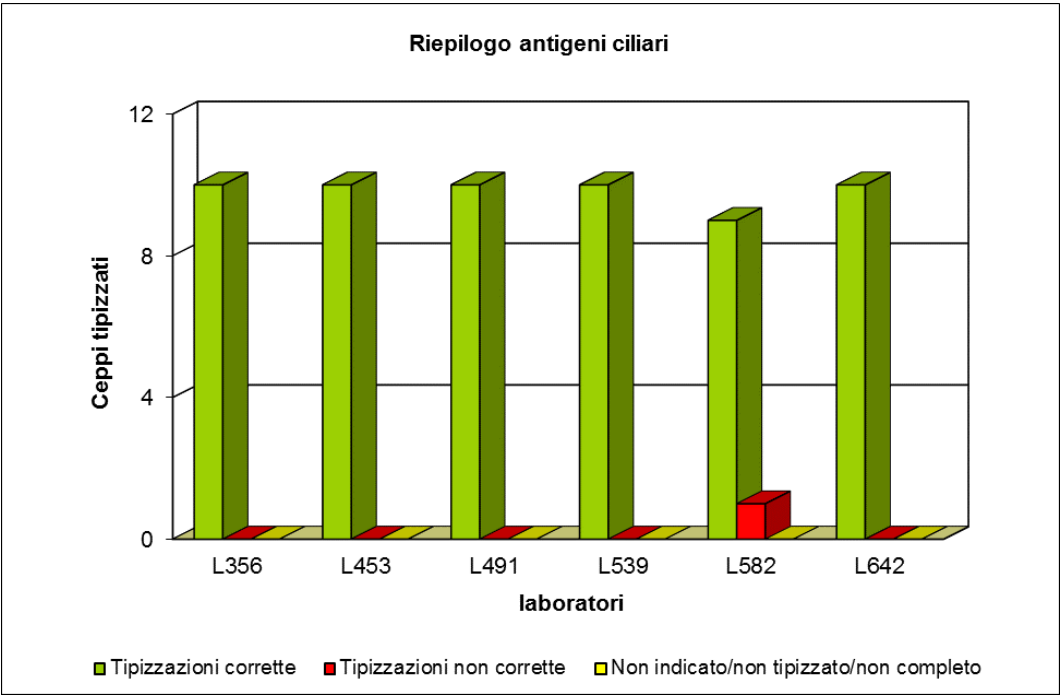


Grafico 13 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio

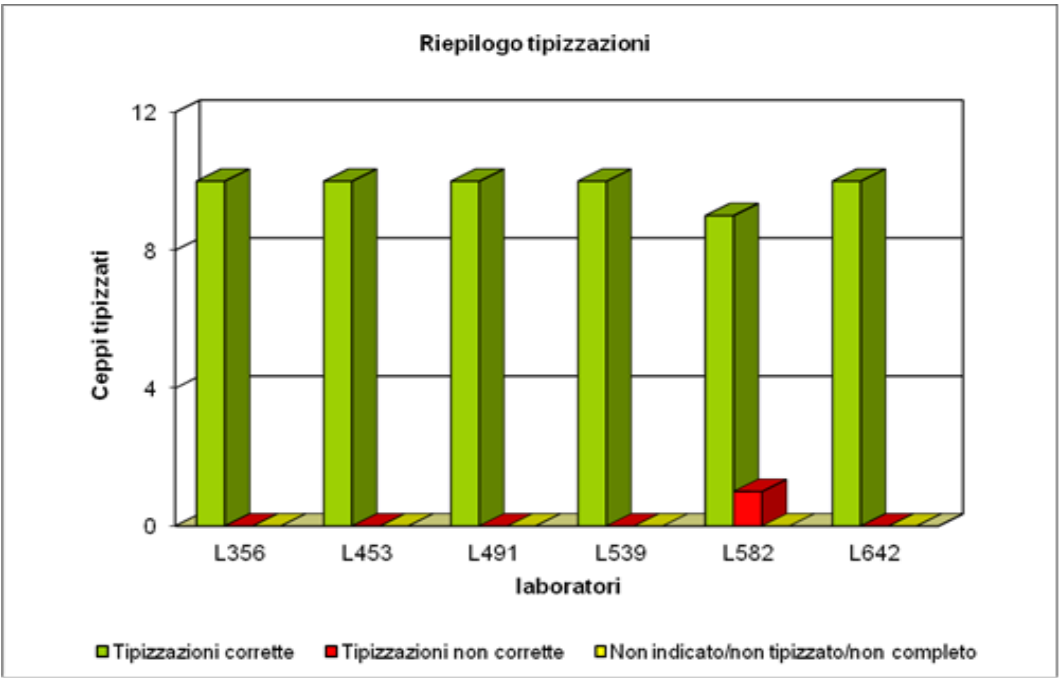


Grafico 14 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratorio

11.3 RISULTATI PER CEPPLO TESTATO

I risultati della sierotipizzazione espressi per ceppo sono riportati in Tabella 13.

N ceppo		somatico		ciliare		sierotipizzazione	
		Tipizz. corretta	Tipizz. non corretta	Tipizz. corretta	Tipizz. non corretta	Tipizz. corretta	Tipizz. non corretta
1	S. Agama	6	0	6	0	6	0
2	S. Typhimurium	6	0	6	0	6	0
3	Variante monofasica di S. Typhimurium	6	0	6	0	6	0
4	S. Lagos	6	0	6	0	6	0
5	Variante monofasica di S. Typhimurium	6	0	6	0	6	0
6	S. Enteritidis	6	0	6	0	6	0
7	S. Gallinarum biovar Pullorum	6	0	6	0	6	0
8	S. Virchow	6	0	6	0	6	0
9	S. Enteritidis	6	0	5	1	5	1
10	S. Typhimurium	6	0	6	0	6	0

Tab. 13 - Risultati della sierotipizzazione per ceppo [SA2]

Nella tabella 14 vengono riportati gli errori associati al sierotipo per il quale si sono verificati problemi d'identificazione.

N. ceppo	Sierotipo	Antigeni O	Antigeni H	Codice laboratorio
4	S. Enteritidis	9	g,m:-	CRNS
	S. Blegdam	9,12	g.m.q:	L582

Tab. 14 - Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione [SA2]

I grafici 15, 16, 17 riassumono i risultati della tipizzazione degli antigeni somatici, ciliari e l'identificazione dei singoli ceppi.

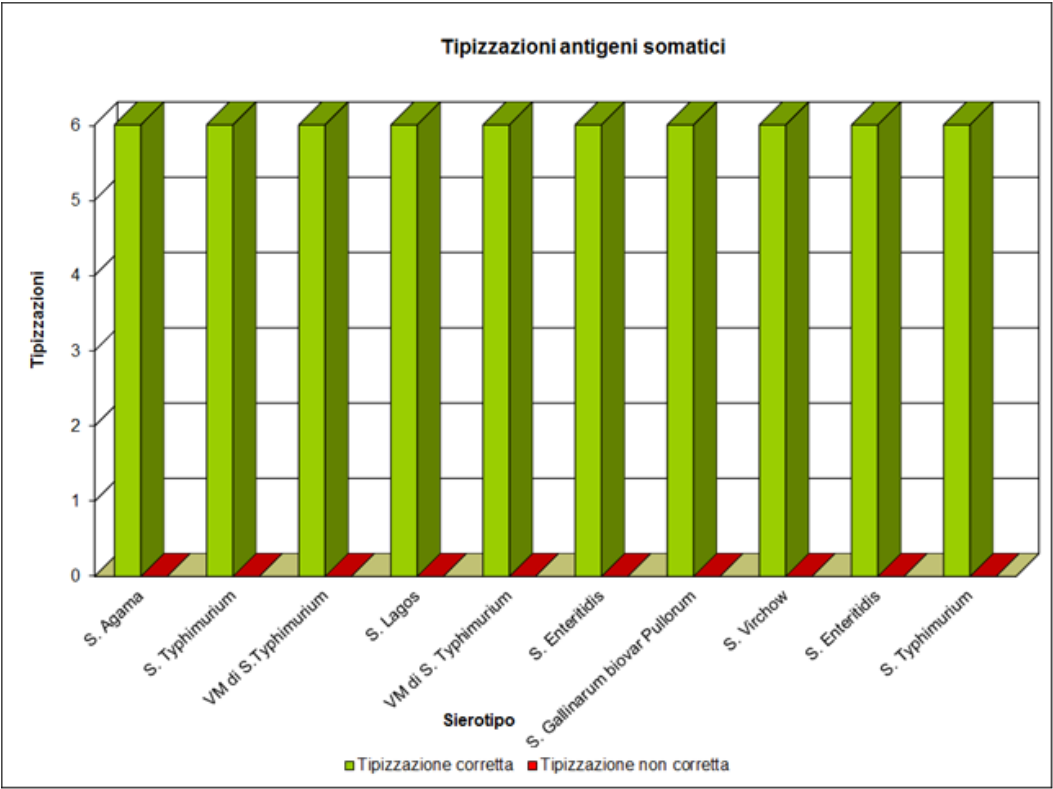


Grafico 15 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo

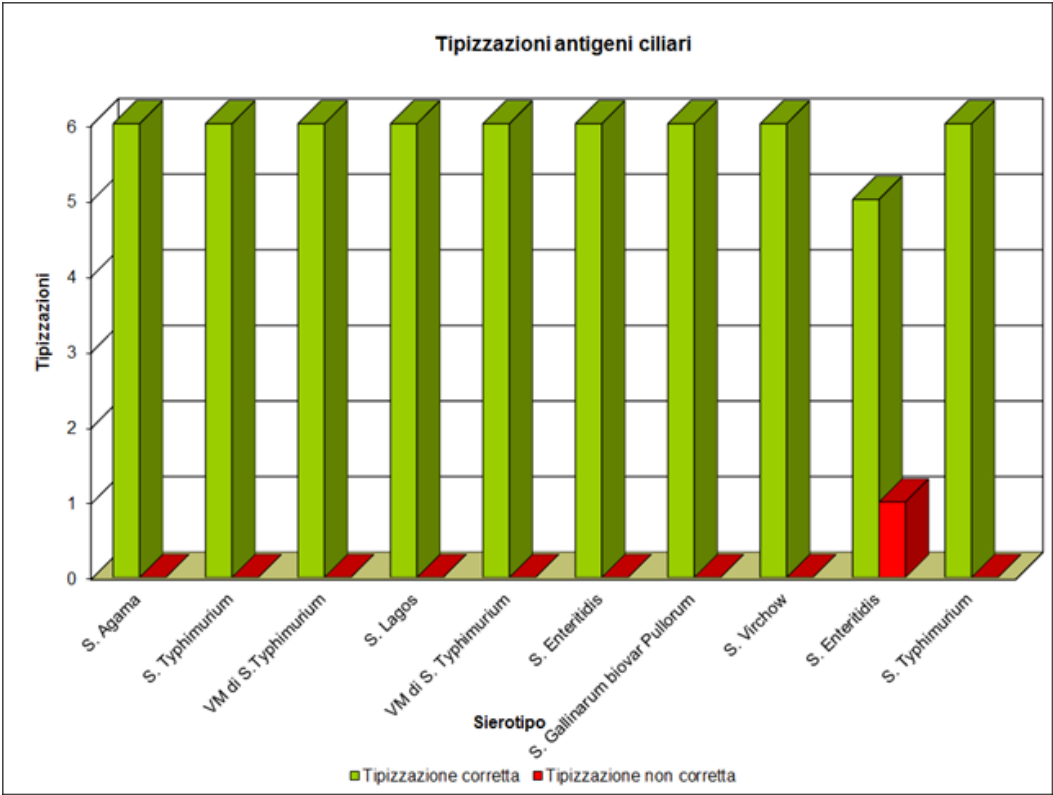


Grafico 16 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo

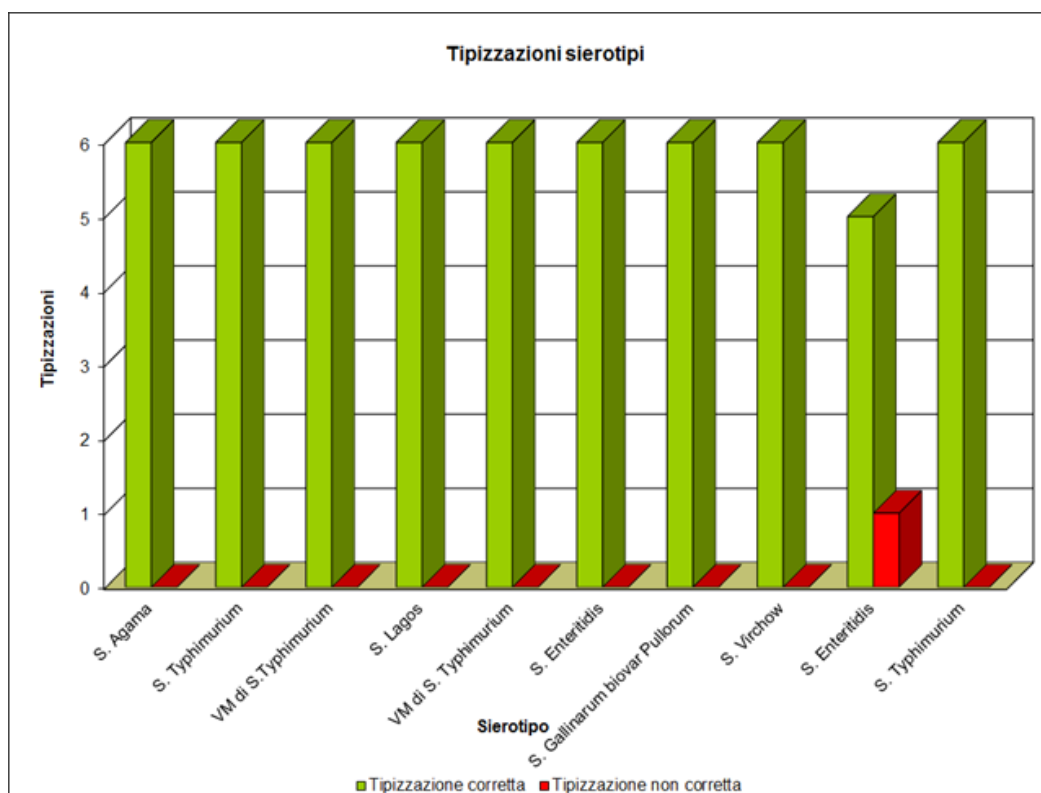


Grafico 17 - Risultati identificazione dei sierotipi

12. VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE

Il circuito SA2 prevede la identificazione esclusiva di *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica di *S. Typhimurium*. Per una non corretta identificazione di questi sierotipi sono attribuiti 2 punti di penalità.

Nella valutazione complessiva, nel caso in cui il circuito preveda l'analisi di almeno 10 ceppi, 2 punti di penalità indicano una performance soddisfacente, oltre 4 punti di penalità la performance è ritenuta non soddisfacente.

Secondo i criteri sopra descritti in Tabella 15 sono riportati i punti di penalità relativi ai singoli partecipanti.

Cod. Lab.	L356	L453	L491	L539	L582	L642
Penalità n.	0	0	0	0	2	0

Tab. 15 – Penalità [SA2]

13. ANALISI DEI RISULTATI DEI CIRCUITI INTERLABORATORIO (SA2) EFFETTUATI DAL 2014 AL 2016

I grafici 18, 19 e 20 mostrano i risultati suddivisi rispettivamente per sierotipizzazioni complete corrette, sierotipizzazioni antigeni O e sierotipizzazione antigeni H.

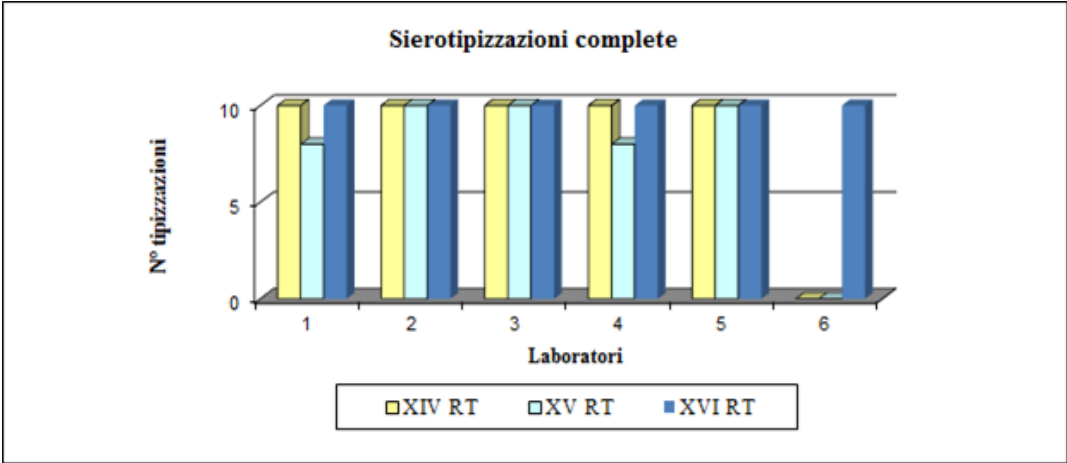


Grafico 18 – Sierotipizzazioni complete

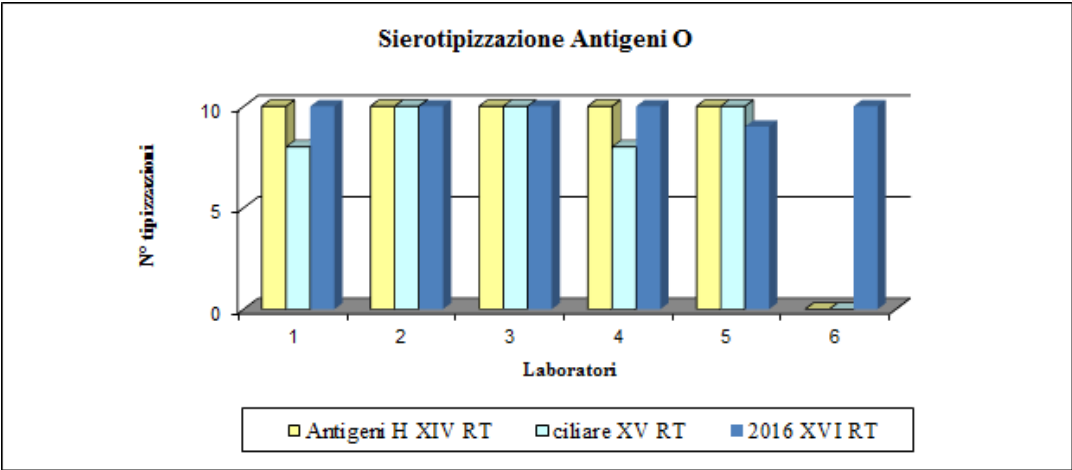


Grafico 19 - Sierotipizzazione Antigeni O

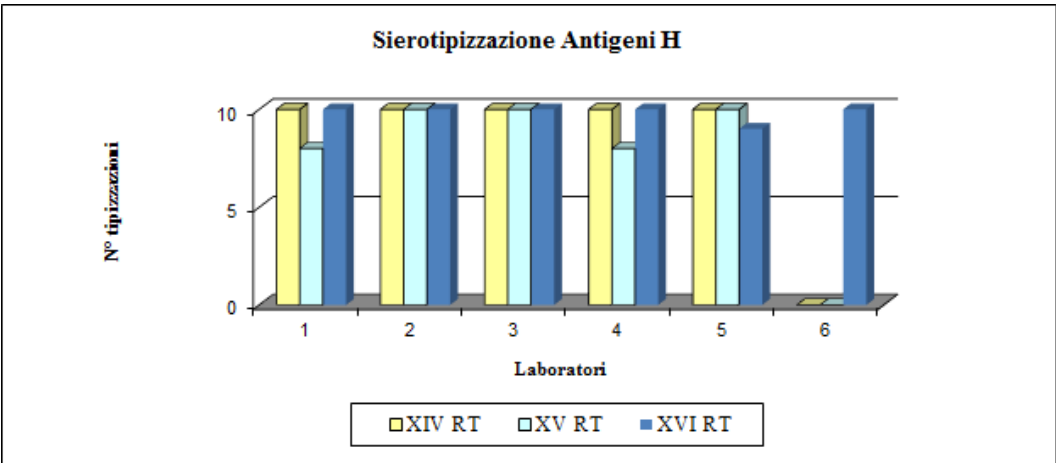


Grafico 20 - Sierotipizzazione Antigeni H

14. ANALISI DELLA CONCORDANZA

Per ogni laboratorio partecipante si è calcolata la statistica K di Cohen che indica il grado di accordo tra i risultati forniti dal laboratorio in esame e gli esiti corretti dall'ente organizzatore del circuito.

Si è calcolato inoltre il grado di accordo complessivo tra i laboratori partecipanti.

Il valore di K ottenuto per ciascun laboratorio, complessivo e l'interpretazione della statistica con il relativo livello di significatività p-value è riportato in tabella 16.

	L356	L453	L491	L539	L582	642	K circuito
K	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,8837	1,0000	0,9606
p-value	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Tab. 16 - Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante [SA2]

Confrontando i risultati ottenuti dai singoli laboratori con scala di Landis & Koch (tabella 17) che fornisce un'indicazione per interpretare la concordanza di un laboratorio sulla base del valore K ottenuto, si può concludere che tutti i laboratori hanno ottenuto un livello di concordanza tra 0.81-1.000, che corrisponde ad una performance pienamente soddisfacente.

Valutando i dati complessivi la concordanza dell'intero circuito è risultata pari a 0.9606 IC95[0.881; 1.000] quindi il livello di performance generale è stato giudicato soddisfacente.

K	Concordanza
≤ 0	Scarsissima
0.01-0.20	Scarsa
0.21-0.40	Discreta
0.41-0.60	Moderata
0.61-0.80	Buona
0.81-1.00	Ottima

Tab. 17 - Scala di Landis & Koch [SA2]

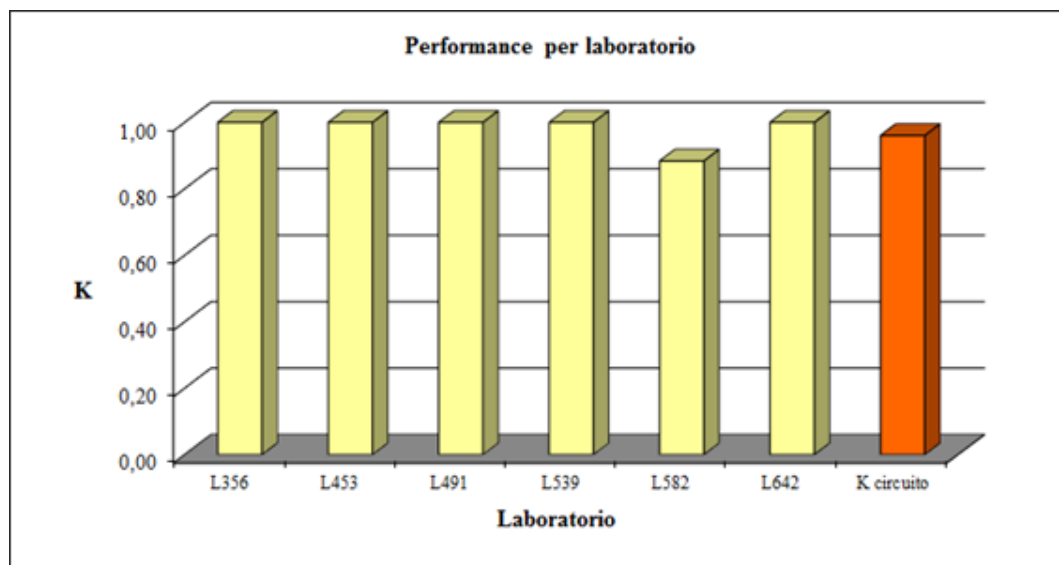


Grafico 21 - Performance per laboratorio

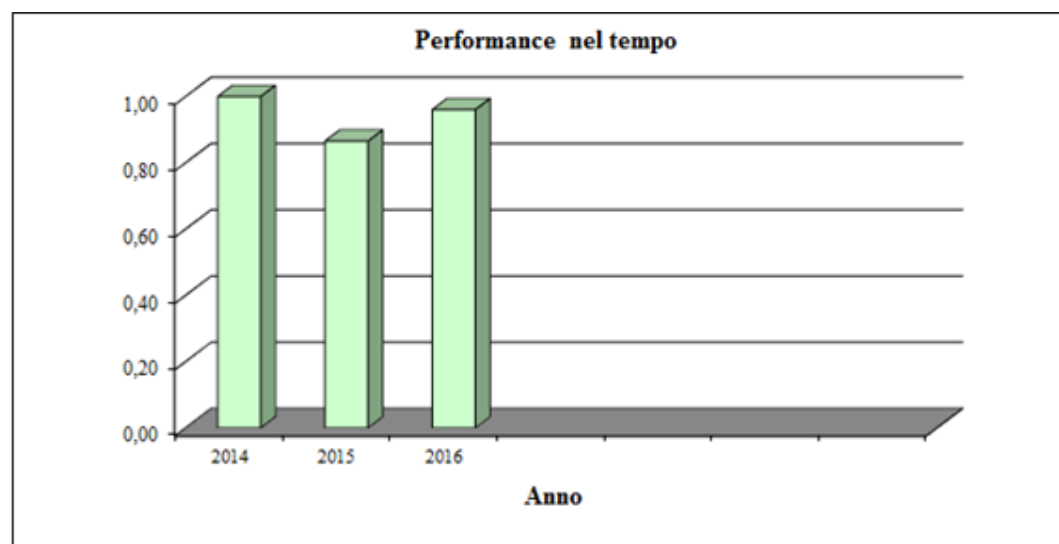


Grafico 22 - Performance nel tempo

15. CONCLUSIONI

Relativamente al Circuito SA1, sulla base delle informazioni raccolte dai Test Report, per quanto riguarda il metodo applicato principalmente, si è utilizzata la procedura di tipizzazione sierologica basata sull'agglutinazione rapida e in alcuni casi è stata eseguito anche il metodo in PCR.

La maggior parte dei laboratori impiega solo sieri Statens Serum Institut in alcuni casi sia sieri Statens Serum Institut, sia Difco o sieri Becton Dickinson.

Rispetto alle edizioni precedenti del circuito è stato utilizzato un nuovo criterio di valutazione delle performance dei partecipanti in linea con quanto proposto a livello europeo dal Centro di Referenza Comunitario. Secondo questo nuovo criterio il numero di penalità relativo ai partecipanti è risultato variabile tra 0 (4 laboratori) e 6 (1 laboratorio). Complessivamente la performance ottenuta dai laboratori partecipanti è da considerarsi soddisfacente, fatta eccezione per un laboratorio, che ha identificato in modo non corretto un ceppo appartenente ad un sierotipo rilevante e due ceppi appartenenti ad altri sierotipi. Per questo laboratorio è stato pianificato un circuito follow-up.

La maggior parte degli errori erano dovuti ad una non corretta identificazione degli antigeni ciliari, mentre molto raramente sono stati identificati problemi nell'identificazione della componente somatica.

Valutando la concordanza complessiva del Circuito SA1 (secondo il k di Cohen) la performance dei laboratori è risultata in linea con le edizioni precedenti.

Anche per il circuito SA2 è stato seguito principalmente il metodo sierologico, con sieri Statens Serum Institut e due laboratori hanno applicato la procedura molecolare.

Secondo il nuovo criterio di valutazione delle performance dei partecipanti, in linea con quanto proposto per il Circuito SA1, anche per il Circuito SA2, complessivamente la performance è risultata soddisfacente con una identificazione non corretta, da parte di un singolo partecipante, di un sierotipo per il quale tale metodo è mirato.

Valutando la concordanza complessiva del Circuito SA2 (secondo il k di Cohen) la performance dei laboratori è risultata in linea con le edizioni precedenti.

Nota

I laboratori sono resi anonimi e identificati solo tramite codici alfa-numeric (Informativa ex art. 13 del D.Lgs. n. 196/30.6.2003 e s.m. e i. "Codice in materia di protezione dei dati personali"):

- i dati acquisiti sono utilizzati dall'Istituto per il Circuito Interlaboratorio AQUA e la gestione delle attività correlate;
- le attività comportanti il trattamento dei dati conferiti sono svolte per conseguire finalità a carattere istituzionale;
- il trattamento dei dati è effettuato sia con strumenti informatici che cartacei da parte dei servizi dell'Istituto;
- il titolare del trattamento è l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie in persona del Direttore Generale con sede in Legnaro (PD) – Viale dell'Università, 10 e il Responsabile della Struttura Complessa SCS1– Analisi del rischio e sorveglianza in sanità pubblica è la dr.ssa Antonia Ricci.
- **l'interessato potrà esercitare i diritti di cui all'art. 7 del D.Lgs. n. 196/2003 rivolgendosi all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie con sede in Legnaro (PD) – Viale dell'Università, 10).**

RIFERIMENTI

Responsabile circuito interlaboratorio Aqua isolamento-identificazione e tipizzazione salmonella

Dott.ssa Antonia Ricci Tel.0498084296 e-mail aricci@izsvenezie.it

Responsabile circuito interlaboratorio sierotipizzazione di *Salmonella* spp

Dott.ssa Lisa Barco Tel. 049 8084305 e-mail lbarco@izsvenezie.it

Responsabile tecnico

Dott.ssa Cristina Saccardin Tel. 049 8084283 e-mail csaccardin@izsvenezie.it

Responsabile statistico

Dott.ssa Marzia Mancin Tel. 049 8084252 e-mail mmancin@izsvenezie.it

Il presente report è a cura di

Dott.ssa Lisa Barco, dott.ssa Cristina Saccardin, dott.ssa Antonia Ricci

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Analisi del Rischio e Sorveglianza
V.le dell'Università 10-35020 LEGNARO (PD)
www.izsvenezie.it