

## ORGANIZZAZIONE DEL CIRCUITO INTERLABORATORIO AQUA

### Isolamento - Identificazione e sierotipizzazione di *Salmonella* spp. (AQUA SA)

Nome e indirizzo del provider e del coordinatore del "Circuito Interlaboratorio per l'Assicurazione qualità dei risultati - AQUA"	Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie Viale dell'Università 10 – 35020 LEGNARO Coordinatore Dr.ssa Maria Grimaldi Centro Servizi alla Produzione Tel. 049/8084306 e-mail: mgrimaldi@izsvenezie.it
Nome e recapiti del responsabile del circuito AQUA SA	Dr.ssa Lisa Barco SCS1 Microbiologia generale e sperimentale Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi Tel.049 8084137 e-mail: crns.circuiti@izsvenezie.it
Nome e recapiti del responsabile tecnico e statistico AQUA SA	Responsabile tecnico: Dr.ssa Cristina Saccardin SCS1 Microbiologia generale e sperimentale Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi Tel. 049/8084382 e-mail: CRNScircuiti@izsvenezie.it  Responsabile statistico: Dr.ssa Marzia Mancin SCS1 Microbiologia generale e sperimentale Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi Tel. 049/8084431 e-mail: <a href="mailto:mmancin@izsvenezie.it">mmancin@izsvenezie.it</a>
Obiettivo e struttura del circuito	L'obiettivo del circuito interlaboratorio AQUA SA è di garantire uno strumento di assicurazione qualità e confronto dei risultati da parte dei laboratori partecipanti. Il Circuito AQUA SA è organizzato nei seguenti schemi: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>SA1:</b> Sierotipizzazione di 20 ceppi di <i>Salmonella</i> spp.</li> <li>• <b>SA2:</b> Sierotipizzazione esclusiva degli isolati appartenenti ai sierotipi di <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i> e variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>.</li> <li>• <b>SA3</b> (erogato in due rounds "a" e "b"): Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp,</li> <li>• <b>SA4:</b> Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp,</li> </ul>
Subappalto delle attività	Nessuna attività viene subappaltata a terzi.
Esperti tecnici esterni all'Organizzazione del circuito	Nessuno.

<p>Requisiti che permettano la partecipazione</p>	<p>Possono partecipare i laboratori attrezzati per manipolare microrganismi del Gruppo di Rischio 2 secondo la classificazione stabilita dall'All. XLVI del D. Lgs. 09/04/2008, n° 81.</p> <p>I seguenti schemi sono limitati a:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>SA3</b> (erogato in due rounds "a" e "b"): Laboratori privati</li> <li>• <b>SA4</b>: Laboratori della rete degli Istituti Zooprofilattici Sper.li (IIZZSS)</li> </ul> <p>Le iscrizioni dei nuovi clienti avvengono on-line tramite il sito web dell'IZSVe. L'iscrizione attribuisce al partecipante un codice alfa-numerico univoco e anonimo che consente l'accesso personalizzato (con utente e password) al gestionale Aquaweb. I clienti già iscritti, devono accedere ad Aquaweb per le successive partecipazioni.</p> <p>Con l'iscrizione al circuito AQUA il cliente accetta le condizioni generali di contratto pubblicate sul sito dell'istituto.</p>
<p>Numero e tipologia di partecipanti attesi</p>	<p>I partecipanti attesi sono laboratori pubblici e privati.</p> <p>Per gli schemi <b>SA1</b> ed <b>SA2</b>. Non è previsto un numero minimo di partecipanti</p> <p>Per gli schemi <b>SA3 a e b</b> e <b>SA4</b> il numero massimo di partecipanti per rounds è pari a 30. I laboratori regolarmente iscritti verranno sottoposti a selezione in caso di numero complessivo eccedente il numero massimo previsto.</p>
<p>Normativa e legislazione di riferimento</p>	<p>Per la gestione del Circuito Interlaboratorio:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ISO/IEC 17043</li> <li>• ISO/IEC 17025</li> <li>• ISO 13528</li> <li>• ISO/TS 22117</li> </ul> <p>Per le prove di omogeneità e stabilità:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ISO Guide 35</li> <li>• ISO 6579-1</li> <li>• ISO/TR 6579-3</li> <li>• PNCS -Piano Nazionale di controllo delle Salmonellosi negli avicoli</li> <li>• Regolamento CE 2160/2003</li> <li>• M. Mancin, L. Barco, C. Saccardin, A. Ricci; Proposed statistical analysis to evaluate qualitative proficiency testing of Salmonella serotyping. Accreditation and Quality Assurance, ISSN 0949-1775, DOI 10.1007/s00769-015-1129-0</li> </ul> <p>Per le prove accreditate secondo normativa ISO/IEC 17025 si rimanda all'elenco prove pubblicato sul sito web di Accredia.</p>
<p>Tipologie di campioni prova</p>	<p><b>SA1 e SA2</b>: ceppi di <i>Salmonella</i> spp. con sierotipo noto. Tali ceppi di <i>Salmonella</i> spp. sono opportunamente selezionati dalla collezione di materiali di riferimento del Centro di Riferenza Nazionale per le salmonellosi.</p> <p><b>SA3 a e b e SA4</b>: matrice fecale di origine animale o matrice ambientale nell'ambito della produzione primaria e materiali di riferimento (MR) di <i>Salmonella</i> spp. a concentrazioni note.</p>
<p>Analisi previste e calendario di pianificazione degli invii degli schemi</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sierotipizzazione di <i>Salmonella</i> spp. (<b>SA1</b>) e Identificazione di <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i> e variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i> (<b>SA2</b>): il laboratorio partecipante deve eseguire la sierotipizzazione dei campioni di prova impiegando la metodica in uso presso il proprio laboratorio e interpretando i risultati secondo lo schema di Kauffmann-White allo scopo di assegnare a ciascun campione di prova la formula antigenica, intesa come antigeni somatici e flagellari, nonché indicare il nome del sierotipo identificato.</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp. nei campioni della produzione primaria (<b>SA3 a e b e SA4</b>): il laboratorio partecipante dovrà impiegare la metodica utilizzata di routine per analizzare i campioni prelevati nell'ambito del Piano Nazionale di Controllo delle Salmonellosi negli avicoli (metodo di cui alla ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 e/o metodo alternativo validato in accordo alla ISO 16140, come dettagliato nel Piano stesso).</li> </ul> <p>Le tempistiche relative all'erogazione di ciascun schema del circuito sono definite nel calendario predisposto e pubblicato a fine anno sul sito Web IZSVe relativamente alla programmazione/tempistiche previste per anno successivo.</p>
Contenuto e preparazione dei campioni prova	<p>I campioni prova sono costituiti da:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>SA1 e SA2</b>: ceppi di <i>Salmonella</i> spp. con sierotipo noto, seminati in terreno di mantenimento (Agar triptosio)</li> <li><b>SA3 a e b e SA4</b>: materiali di riferimento certificati (MRC) e la matrice fecale per cui, in fase di esecuzione dello schema, si chiede l'allestimento del campione in loco.</li> </ul>
Stoccaggio e distribuzione dei campioni prova	<p>I campioni prova di tutti gli schemi vengono stoccati e trasportati tra +2°C e +8°C: Questa attività è gestita da IZSVe che opera attraverso corrieri specializzati in servizi logistici. È possibile, previo accordo, anche il ritiro dei campioni prova a carico del cliente, direttamente presso il laboratorio organizzatore del circuito AQUA SA.</p> <p>In caso di perdita o di danneggiamento dei campioni prova, l'organizzazione del circuito provvederà, a proprie spese, all'invio di un ulteriore set di campioni prova.</p>
Numero di distribuzioni per anno per ogni tipologia di analisi sulla stessa matrice	<p><b>Sierotipizzazione SA1 e SA2</b>: sono previste 1 round con target <i>Salmonella</i> spp. e 1 con target esclusivo di <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i> e variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>.</p> <p><b>Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp. SA3</b>: sono previsti due rounds rispettivamente a e b.</p> <p>Per lo schema <b>SA4</b> è prevista 1 round.</p>
Numero di campioni prova per schema	<p><b>SA1 e SA2</b> si inviano un minimo di 10 campioni prova a un massimo di 20.</p> <p><b>SA3 a e b e SA4</b> si inviano un minimo di 7 campioni fino a un massimo a 10 campioni prova per ciascuna distribuzione. La distribuzione può contenere campioni codificati con una sequenza numerica diversa, mantenendo la stessa composizione in termini di positivi /negativi.</p>
Informazioni tecniche specifiche	<p>Le informazioni riguardanti i campioni prova, pubblicate in Aquaweb, sono le seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>modalità di conservazione dei campioni prima dell'inizio analisi;</li> <li>modalità di ricostituzione, conservazione e processazione dei campioni prova;</li> <li>analisi da effettuare e metodiche da utilizzare;</li> <li>modalità di registrazione dei risultati;</li> <li>date di invio dei pannelli, periodo per l'esecuzione delle prove e data ultima per l'invio dei risultati;</li> <li>scheda di sicurezza.</li> </ul>
Controlli di qualità (prove di omogeneità e stabilità) eseguiti su ogni lotto di produzione di campioni prova	<p>Per gli schemi di Sierotipizzazione <b>SA1 e SA2</b>: la verifica dell'omogeneità di ciascun lotto di campioni, viene eseguita su <i>m</i> provette (almeno 10), che includano almeno un ceppo di ciascuno dei sierotipi considerati rilevanti e altri sierotipi inclusi nel circuito in oggetto. L'omogeneità è verificata se le caratteristiche antigeniche osservate per ogni provetta analizzata sono conformi alle caratteristiche attese.</p> <p>La verifica della stabilità del lotto viene effettuata durante il periodo previsto di esecuzione dello schema sulle medesime provette utilizzate in fase di verifica dell'omogeneità. La stabilità è verificata se le caratteristiche antigeniche osservate per ogni provetta analizzata sono conformi alle caratteristiche attese.</p>

	<p>Per gli schemi di Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp. <b>SA3 a e b e SA4</b> il campione prova è costituito da MR e matrice ed è testato per omogeneità e stabilità che sono valutate verificando la concordanza/discordanza tra l'esito osservato e l'atteso. L'omogeneità è verificata su g (almeno 10 flaconcini), la stabilità è verificata analizzando, analizzando <i>m</i> (almeno 2) campioni il primo giorno previsto per l'esecuzione del CI e altri <i>m</i> (almeno 2) campioni l'ultimo giorno del suddetto periodo. La tipologia di campioni esaminati per la verifica della stabilità tiene conto della tipologia di invio ai partecipanti.</p>														
<p>Metodi statistici utilizzati per l'elaborazione dei risultati dei partecipanti</p>	<p>Il valore assegnato coincide con il valore atteso che è definito dall'organizzatore del circuito, in quanto derivante dalla conoscenza della preparazione dei campioni prova da analizzare e/o dall'utilizzo di materiale di riferimento. La valutazione dei risultati si basa sulla verifica della concordanza/discordanza dei risultati ottenuti da ciascun laboratorio rispetto al risultato atteso.</p> <p>Per gli schemi di sierotipizzazione <b>SA1 e SA2</b> la performance è intesa come la capacità di identificare il sierotipo di <i>Salmonella</i> spp. o i sierotipi <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i>, inclusa la variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i> Per valutare la performance di ciascun partecipante si utilizzano i criteri di attribuzione di punti di penalità alle identificazioni non corrette. Tali criteri sono stati proposti dal Centro di Referenza Comunitario per <i>Salmonella</i> (CRL-<i>Salmonella</i>) di Bilthoven,NL nel contesto della stessa tipologia di circuito che organizza per i Centro di Referenza Nazionali per le <i>Salmonellosi</i>. In particolare, sono attribuiti punti di penalità ai ceppi non tipizzati correttamente, distinguendo i ceppi appartenenti ai cinque sierotipi rilevanti, (<i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i>, inclusa la variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>, <i>S. Hadar</i>, <i>S. Infantis</i> e <i>S. Virchow</i>) da quelli appartenenti a sierotipi diversi. I risultati inviati vengono inoltre elaborati statisticamente al fine di stimare il grado di concordanza/discordanza, attraverso la statistica K di Cohen, tra l'esito di sierotipizzazione inviato da ogni laboratorio (indicato nell'esempio come Laboratorio A) e il risultato atteso dal Centro di Referenza Nazionale per le <i>Salmonellosi</i> (Laboratorio B), considerato Gold Standard in quanto organizzatore del circuito. Per l'interpretazione del grado di accordo si utilizza la scala di Landis &amp; Koch</p> <table border="1" data-bbox="783 1305 1246 1574"> <thead> <tr> <th>K</th> <th>Concordanza</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>≤ 0</td> <td>Scarsissima</td> </tr> <tr> <td>0.01-0.20</td> <td>Scarsa</td> </tr> <tr> <td>0.21-0.40</td> <td>Discreta</td> </tr> <tr> <td>0.41-0.60</td> <td>Moderata</td> </tr> <tr> <td>0.61-0.80</td> <td>Buona</td> </tr> <tr> <td>0.81-1.00</td> <td>Ottima</td> </tr> </tbody> </table> <p>Per gli schemi di Isolamento e identificazione <b>SA3 a e b e SA4</b> la performance è intesa come la capacità di ciascun laboratorio partecipante di identificare correttamente la presenza/assenza (rilevato/non rilevato) di <i>Salmonella</i> spp. nei campioni di prova. Sono stabiliti dei criteri minimi di accettabilità che l'organizzatore si riserva di poter modificare sulla base del livello di difficoltà di volta in volta definito.</p>	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
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														
<p>Emissione report</p>	<p>Dopo l'arrivo dei risultati dei partecipanti, in attesa del report definitivo, viene pubblicato in Aquaweb un report parziale che riporta il valore atteso. Il report parziale viene reso noto entro due settimane dalla data indicata per l'inserimento ultimo dei risultati. Una volta pubblicato il report parziale i risultati inviati non possono più essere modificati. <b>SA1 e SA2:</b> il report parziale riporta l'esito atteso con le seguenti informazioni: - l'identificazione numerica del campione di prova (ceppo n° );</p>														

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- gli antigeni somatici;</li> <li>- gli antigeni ciliari;</li> <li>- nome del sierotipo.</li> </ul> <p><b>SA3 a e b e SA4:</b> il report parziale riporta l'esito atteso in termini di rilevato/non rilevato per ogni campione prova delle distribuzioni somministrate.</p> <p>Contestualmente alla emissione del report parziale a ciascun laboratorio è comunicato il numero della distribuzione assegnata.</p> <p>Il report definitivo contiene, oltre ai risultati di ritorno dei partecipanti, alla loro elaborazione ed alla valutazione della loro performance (espressi con tabelle e grafici), le seguenti informazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Obiettivi del circuito interlaboratorio</li> <li>- Caratteristiche dei campioni inviati, metodiche utilizzate per la loro preparazione e controllo dei campioni prova;</li> <li>- Valutazione dell'omogeneità e della stabilità in termini di concordanza con il risultato atteso. I singoli risultati delle prove effettuate sono disponibili, su richiesta, presso l'organizzazione;</li> <li>- I criteri di valutazione della performance dei partecipanti;</li> <li>- Commenti e raccomandazioni basati sui risultati del circuito interlaboratorio</li> </ul> <p>I risultati trasmessi dai laboratori sono resi anonimi tramite i codici identificativi alfa-numeriche propri del laboratorio stesso.</p> <p>Il report definitivo viene pubblicato sul sito web dell'IZSVe ed in Aquaweb entro 2 mesi dalla data ultima prevista per l'esecuzione delle prove.</p> <p>In caso di performance non conformi, il partecipante può richiedere all'Organizzazione la ripetizione delle prove, entro 2 mesi dalla data di emissione del report definitivo.</p> <p>I campioni prova e la spedizione sono gratuiti per gli istituti pubblici appartenenti alla rete di sorveglianza nazionale, mentre per i laboratori privati le spese sono a carico del destinatario.</p> <p>Nel caso in cui uno schema venga distribuito e alcune prove si dimostrino successivamente non adatte per la valutazione della performance, lo stesso viene annullato e ne viene data comunicazione ai partecipanti tramite email da parte del responsabile del circuito e successiva descrizione nel report finale.</p> <p>Tutti i documenti di registrazione inerenti il circuito interlaboratorio vengono conservati per 10 anni, salvo diverse disposizioni di legge, nel qual caso prevalgono queste ultime.</p> <p>I campioni prova e la spedizione sono gratuiti per gli istituti pubblici appartenenti alla rete di sorveglianza nazionale.</p> <p>Tutti i documenti di registrazione inerenti il circuito interlaboratorio vengono conservati per 10 anni, salvo diverse disposizioni di legge, nel qual caso prevalgono queste ultime.</p> <p>Nel caso in cui uno o più partecipanti non soddisfino i criteri di "buona performance" viene richiesta la partecipazione ad un circuito di follow-up.</p>
Comunicazione con i partecipanti	<p>I partecipanti possono comunicare con l'Organizzazione del circuito in qualsiasi momento (prima dell'inizio delle prove, in ogni fase del circuito o successivamente, per chiedere chiarimenti sulle modalità operative, per necessità legate all'esecuzione delle prove, chiarimenti sui risultati ottenuti e gestione delle non conformità) tramite mail o telefonicamente anche nel caso di perdita o di danneggiamento dei campioni prova.</p> <p>Eventuali cambiamenti nel programma o nelle operazioni dello schema vengono immediatamente comunicate.</p> <p>I partecipanti possono appellarsi relativamente alla valutazione della loro performance entro 2 mesi dalla pubblicazione del report definitivo.</p> <p>Sono auspicabili informazioni di ritorno da parte dei partecipanti, al fine di migliorare costantemente il servizio.</p> <p>In ogni schema AQUA SA, alla pubblicazione del Report definitivo viene aperta la sezione: "CUSTOMER SATISFACTION" dove il partecipante può valutare lo schema in oggetto, cliccando lo smile verde, giallo o rosso. Il partecipante può lasciare anche le sue osservazioni e/o suggerimenti, in particolare se è stato selezionato lo smile giallo o rosso. I dati di customer satisfaction raccolti sono trattati</p>

	<p>ed utilizzati dall'IZSve, organizzatore del circuito interlaboratorio AQUA, nel rispetto della riservatezza e della privacy, secondo quanto previsto dal Regolamento UE 2016/679, allo scopo di migliorare continuamente il servizio offerto. I dati di customer satisfaction inviati non sono anonimi allo scopo di poter dialogare direttamente con i laboratori, in base ai commenti, suggerimenti o critiche espressi nel campo testuale della sezione, relativa ad ogni schema AQUA SA.</p> <p>Entro due mesi dalla data di emissione del report, i dati di customer satisfaction raccolti verranno valutati, per poter operare tempestivamente azioni correttive e/o di miglioramento.</p> <p>Le valutazioni degli schemi possono peraltro essere inserite anche dopo i due mesi. In tale caso la valutazione dei dati di customer satisfaction avviene in fase di riesame annuale della Direzione che viene svolto i primi mesi dell'anno successivo.</p>
--	---