

ORGANIZZAZIONE DEL CIRCUITO INTERLABORATORIO AQUA

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

Nome e indirizzo del provider del "Circuito Interlaboratorio per l'Assicurazione qualità dei risultati - AQUA"	Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie Viale dell'Università 10 – 35020 LEGNARO
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: mmancin@izsvenezie.it
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"> • SA1: Sierotipizzazione di 20 ceppi di <i>Salmonella</i> spp. • SA2: Sierotipizzazione esclusiva degli isolati appartenenti ai sierotipi di <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i> e variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>. • SA3 (erogato in due rounds "a" e "b"): Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp, • SA4: Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp,
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"> • SA3 (erogato in due rounds "a" e "b"): Laboratori privati • SA4: Laboratori della rete degli Istituti Zooprofilattici Sper.li (IIZZSS) <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 SA1 e SA2 non è previsto un numero minimo di partecipanti</p> <p>Per gli schemi SA3 a e b e SA4 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"> • ISO/IEC 17043 • ISO/IEC 17025 • ISO 13528 • ISO/TS 22117 <p>Per le prove di omogeneità e stabilità:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ISO Guide 35 • ISO 6579-1 • ISO/TR 6579-3 • PNCS -Piano Nazionale di controllo delle Salmonellosi negli avicoli • Regolamento CE 2160/2003 • 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 <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>SA1 e SA2: 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 Referenza Nazionale per le salmonellosi.</p> <p>SA3 a e b e SA4: 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"> • Sierotipizzazione di <i>Salmonella</i> spp. (SA1) e Identificazione di <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i> e variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i> (SA2): 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. • Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp. nei campioni della produzione primaria (SA3 a e b e SA4): il laboratorio partecipante dovrà

	<p>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).</p> <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"> - SA1 e SA2: ceppi di <i>Salmonella</i> spp. con sierotipo noto, seminati in terreno di mantenimento (Agar triptosio) - SA3 a e b e SA4: 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.
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>Sierotipizzazione SA1 e SA2: 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>Isolamento e identificazione di <i>Salmonella</i> spp. SA3: sono previsti due rounds rispettivamente a e b.</p> <p>Per lo schema SA4 è prevista 1 round.</p>
Numero di campioni prova per schema	<p>SA1 e SA2 si inviano un minimo di 10 campioni prova a un massimo di 20.</p> <p>SA3 a e b e SA4 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"> - modalità di conservazione dei campioni prima dell'inizio analisi; - modalità di ricostituzione, conservazione e processazione dei campioni prova; - analisi da effettuare e metodiche da utilizzare; - modalità di registrazione dei risultati; - date di invio dei pannelli, periodo per l'esecuzione delle prove e data ultima per l'invio dei risultati; - scheda di sicurezza.
Controlli di qualità (prove di omogeneità e stabilità) eseguiti su ogni lotto di produzione di campioni prova	<p>Per gli schemi di Sierotipizzazione SA1 e SA2: 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. SA3 a e b e SA4 il campione prova è costituito da MR e matrice ed è testato per omogeneità e</p>

	<p>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 m (almeno 2) campioni il primo giorno previsto per l'esecuzione del CI e altri m (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.</p> <p>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 SA1 e SA2 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></p> <p>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>.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>Per l'interpretazione del grado di accordo si utilizza la scala di Landis & Koch</p> <table border="1" data-bbox="783 1211 1246 1480" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">K</th> <th style="text-align: center;">Concordanza</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">≤ 0</td> <td style="text-align: center;">Scarsissima</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">0.01-0.20</td> <td style="text-align: center;">Scarsa</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">0.21-0.40</td> <td style="text-align: center;">Discreta</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">0.41-0.60</td> <td style="text-align: center;">Moderata</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">0.61-0.80</td> <td style="text-align: center;">Buona</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">0.81-1.00</td> <td style="text-align: center;">Ottima</td> </tr> </tbody> </table> <p>Per gli schemi di Isolamento e identificazione SA3 a e b e SA4 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.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>SA1 e SA2: il report parziale riporta l'esito atteso con le seguenti informazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> - l'identificazione numerica del campione di prova (ceppo n°); - gli antigeni somatici; - gli antigeni ciliari; - nome del sierotipo. 														

	<p>SA3 a e b e SA4: il report parziale riporta l'esito atteso in termini di rilevato/non rilevato per ogni campione prova delle distribuzioni somministrate. 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"> - Obiettivi del circuito interlaboratorio - Caratteristiche dei campioni inviati, metodiche utilizzate per la loro preparazione e controllo dei campioni prova; - 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; - I criteri di valutazione della performance dei partecipanti; - Commenti e raccomandazioni basati sui risultati del circuito interlaboratorio <p>I risultati trasmessi dai laboratori sono resi anonimi tramite i codici identificativi alfanumerici 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>
<p>Comunicazione con i partecipanti</p>	<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 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</p>

	<p>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>
--	---