

Organizzazione generale del circuito interlaboratorio AQUA

PROVIDER Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe)
Direttore generale
Viale dell'Università, 10 – 35020 Legnaro (PD)

1. Natura e scopo del circuito

Il circuito "AQUA – Circuito Interlaboratorio per l'Assicurazione Qualità dei risultati" è prodotto e gestito secondo la norma UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010 e comprende i seguenti circuiti:

- MICROBIOLOGIA ALIMENTARE (AQUA MA): quantitativo e qualitativo (numerazione e ricerca)
- MICROBIOLOGIA DIAGNOSTICA (AQUA MD): qualitativo (ricerca, identificazione)
- ISOLAMENTO-IDENTIFICAZIONE E SIEROTIPIZZAZIONE SALMONELLA (AQUA SA): qualitativo (ricerca, identificazione, sierotipizzazione)
- BATTERIOLOGIA ORGANISMI ACQUATICI (AQUA IB): qualitativo (ricerca, identificazione)
- VIROLOGIA ORGANISMI ACQUATICI (AQUA IV): qualitativo (ricerca e identificazione)
- PARASSITOLOGIA MOLLUSCHI (ISTOLOGIA E BATTERIOLOGIA) (AQUA PM): qualitativo (ricerca e identificazione)
- VIROLOGIA, SIEROLOGIA E BIOLOGIA MOLECOLARE PER L'INFLUENZA AVIARIA E LA MALATTIA DI NEWCASTLE, AQUA IN erogato ai laboratori Italiani e AQUA IN EU erogato ai Laboratori degli Stati Membri EU: qualitativo (ricerca e identificazione)
- SIEROLOGIA PER DIAGNOSTICA BOVINA E SUINA (AQUA SI): qualitativo
- BIOLOGIA MOLECOLARE PER DIAGNOSTICA BOVINA E SUINA (AQUA BM): qualitativo
- DIAGNOSI DELLA RABBIA (AQUA RV-D): qualitativo.

Le prove dei circuiti di Microbiologia alimentare "AQUA MA", di Virologia, sierologia e biologia molecolare per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle "AQUA IN", di Virologia organismi acquatici "AQUA IV", di Diagnosi della Rabbia "AQUA RV-D" e di Isolamento-identificazione e sierotipizzazione Salmonella "AQUA SA" sono accreditate in conformità alla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010 da ACCREDIA (numero accreditamento PTP n. 0004 P).

Lo scopo del circuito interlaboratorio (CI) è di offrire uno strumento per garantire l'assicurazione della qualità dei risultati:

- valutare le prestazioni (*performance*) dei laboratori per prove specifiche o misurazioni e monitorare le prestazioni dei laboratori su base continua;
- qualificare il personale;
- valutare la competenza tecnica del laboratorio;
- identificare problemi nei laboratori ed attuare azioni per il miglioramento (azioni correttive e/o preventive);
- definire l'efficacia e la comparabilità di nuovi metodi di prova,
- validare le dichiarazioni di incertezza di misura,
- valutare le caratteristiche prestazionali di un metodo tramite confronti interlaboratorio collaborativi (*collaborative trials*).

Nessuna fase della gestione del circuito interlaboratorio AQUA viene subappaltata.

2. Laboratori IZSve che prendono parte alla realizzazione del circuito

Circuito Microbiologia alimentare (AQUA MA)

Microbiologia generale e sperimentale – Legnaro

Responsabile circuito: Dr.ssa Michela Favretti

Tel. 049/8084484

e-mail: mfavretti@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico: Dr.ssa Romina Trevisan

Tel. 049/8084152

e-mail: rtrevisan@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito Microbiologia diagnostica (AQUA MD)

Diagnostica in sanità animale - Legnaro

Responsabile circuito: Dr.ssa Michela Corrò

Tel. 049/8084156

e-mail: mcorro@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico: Dr. Perin Roberto

Tel. 049/8084294

e-mail: rperin@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito isolamento-identificazione e sierotipizzazione Salmonella (AQUA SA)

Centro di Referenza Nazionale per la Salmonella – Legnaro

Responsabile circuito: Dr.ssa Lisa Barco

Tel. 049/8084137

e-mail: CRNScircuiti@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico: Dr.ssa Cristina Saccardin

Tel. 049/8084283

e-mail: CRNScircuiti@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito Batteriologia organismi acquatici (AQUA IB)

Centro di Referenza Nazionale delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei - CSI Legnaro

Responsabile circuito: Dr. Amedeo Manfrin

Tel. 049/8084458

e-mail: amanfrin@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico: Dr.ssa Eleonora Fiocchi

Tel. 049/8084459

e-mail: efiocchi@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito Virologia organismi acquatici (AQUA IV)

Centro di Referenza Nazionale delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei - SCS6 "Laboratorio di Ittiavirologia"

Responsabile circuito: Dr.ssa Anna Toffan

Tel. 049/8084333

e-mail: atoffan@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico: Dr.ssa Alessandra Buratin

Tel. 049/8084388

e-mail: aburatin@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito Parassitologia molluschi (AQUA PM)

Centro di Referenza Nazionale delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei - CSI Legnaro

Responsabile circuito: Dr. Giuseppe Arcangeli

Tel. 049/8084415

e-mail: garcangeli@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico: Dr. Giuseppe Arcangeli

Tel. 049/8084415

e-mail: garcangeli@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito Virologia, Sierologia e Biologia molecolare per l'influenza aviare e la malattia di Newcastle (AQUA IN – AQUA IN EU)

Centro di Referenza Nazionale per l'Influenza aviare e la malattia di Newcastle – AQUA IN - Legnaro

European Union Reference Laboratory for Avian influenza and Newcastle disease – AQUA IN EU - Legnaro

Responsabile circuito (AQUA IN – AQUA IN EU): Dr. Calogero Terregino

Tel. 049/8084377

e-mail: cterregino@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico (AQUA IN): Sig.ra Crispina Veggiato (schemi IN-V e IN-S); Dr.ssa Viviana Valastro (schema IN-M)

Tel. 049/8084375-4118

e-mail: cveggiato@izsvenezie.it

e-mail: vvalastro@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico (AQUA IN EU): Dr.ssa Viviana Valastro

Tel. 049/8084118

e-mail: vvalastro@izsvenezie.it

Responsabile Statistico (AQUA IN – AQUA IN EU): Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito Sierologia per diagnostica bovina e suina (AQUA SI)

Diagnostica in sanità animale - Legnaro

Responsabile circuito: Dr.ssa Lucchese Laura

Tel. 049/8084358

e-mail: llucchese@izsvenezie.it

Responsabile tecnico: Dr.ssa Lucchese Laura

Tel. 049/8084358

e-mail: llucchese@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito Biologia molecolare per diagnostica bovina e suina (AQUA BM)

Diagnostica in sanità animale – Legnaro

Responsabile circuito: Dr.ssa Letizia Ceglie

Tel. 049/8084237

e-mail: lceglie@izsvenezie.it

Responsabile tecnico: Dr.ssa Letizia Ceglie

Tel. 049/8084237

e-mail: lceglie@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Circuito Virologia per la diagnosi della rabbia (AQUA RV-D)

Centro di Referenza Nazionale per la rabbia - Legnaro

Responsabile circuito: Dr.ssa Paola De Benedictis

Tel. 049/8084385

e-mail: pdebenedictis@izsvenezie.it

Responsabile Tecnico: Dr.ssa Barbara Zecchin

Tel. 049/8084387

e-mail: Bazecchin@izsvenezie.it

Responsabile Statistico: Dr.ssa Marzia Mancin

Tel. 049/8084431

e-mail: mmancin@izsvenezie.it

Per informazioni di carattere generale:

Ufficio Qualità

Tel. 049/8084220

e-mail: qualita@izsvenezie.it

3. Modalità di selezione e numero dei partecipanti

La partecipazione è estesa a tutti i laboratori dell'IZSVE, alla rete degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS) e ad altre strutture interessate, pubbliche e private, che eseguono le prove oggetto del circuito interlaboratorio.

Per i circuiti che prevedono prove quantitative è necessario un numero minimo di 15 partecipanti.

4. Natura del campione prova

Il circuito utilizza come campioni prova, matrici diverse in base alle analisi da effettuare cercando di rispettare la natura dei campioni di routine.

5. Modalità di preparazione e controllo dei campioni prova

5.1 Circuito Microbiologia alimentare

I campioni prova sono composti da flaconcini contenenti i microrganismi target e non target liofilizzati (e loro eventuali tossine prodotte) e da matrice alimentare (es. latte, carne, molluschi bivalvi, vegetali), liofilizzata o in polvere, sterile o microrganismo target esente, da aggiungere.

Prima di ogni Circuito viene controllata l'omogeneità dei campioni prova e ne viene verificata la stabilità per tutto il periodo di esecuzione delle analisi previste dal circuito stesso.

5.2 Circuito di microbiologia diagnostica

I campioni prova sono preparati utilizzando ceppi batterici di riferimento da collezioni certificate o ceppi di campo. I campioni prova sono sottoposti a controlli di vitalità e di omogeneità per garantirne la composizione e la stabilità dal momento della spedizione fino all'utilizzo da parte dei laboratori partecipanti al circuito.

5.3 Circuito isolamento-identificazione e sierotipizzazione Salmonella

5.3.1 Isolamento-identificazione *Salmonella* spp.

I campioni prova sono costituiti da matrice fecale di origine animale o da matrici ambientali nell'ambito della produzione primaria e da materiale di riferimento contenente sierotipi di *Salmonella* spp. a concentrazione nota.

I campioni prova sono sottoposti a verifiche di omogeneità, prima dell'invio e di stabilità in fase di esecuzione del circuito.

5.3.2 Sierotipizzazione *Salmonella* spp.

I campioni prova sono costituiti da sierotipi di *Salmonella* spp. della collezione di materiali di riferimento del Centro di Referenza Nazionale Salmonellosi in terreno agarizzato di trasporto. I campioni prova sono sottoposti a verifiche di omogeneità, prima dell'invio e di stabilità in fase di esecuzione del circuito.

5.4 Circuito di batteriologia organismi acquatici

I campioni prova vengono preparati utilizzando ceppi batterici sospesi in matrice latte e successivamente liofilizzati. I campioni liofilizzati vengono testati, allo scopo di verificarne la stabilità e la purezza, a 1°, 7°, 15° e 30° giorno post liofilizzazione e comunque 15 giorni prima della spedizione ai partecipanti al circuito.

5.5 Circuito di virologia organismi acquatici

I campioni sono costituiti da surnatanti di colture cellulari, infettate con i principali agenti virali delle specie ittiche, successivamente liofilizzati.

I prodotti liofilizzati sono controllati per escludere eventuali contaminazioni e confermare l'identità, l'omogeneità e la stabilità.

Inoltre, per avere una indicazione del titolo dei lotti di produzione post liofilizzazione, si esegue, per ogni virus oggetto del test, una titolazione.

5.6 Circuito di parassitologia molluschi

5.6.1 Istologia molluschi

I campioni prova sono costituiti da vetrini istologici e/o citologici derivati da attività di laboratori nazionali o comunitari.

5.6.2 Batteriologia molluschi

I campioni prova vengono preparati utilizzando ceppi batterici isolati da molluschi sospesi in matrice latte e successivamente liofilizzati. I campioni liofilizzati vengono testati, allo scopo di verificarne la stabilità e la purezza, a 1° e 30° giorno post liofilizzazione e comunque 15 giorni prima della spedizione ai partecipanti al circuito.

5.7 Circuito di virologia, sierologia e biologia molecolare per l'influenza aviaria e la malattia di Newcastle

I campioni prova sono costituiti da antigeni emoagglutinanti/virus inattivati dell'influenza aviaria e della malattia di Newcastle/*Paramyxovirus* aviari e sieri policlonali contro *Orthomyxovirus* (influenzavirus tipo A) e *Paramyxovirus* aviari.

Per lo schema di virologia classica gli antigeni sono prodotti a partire da matrici virali coltivate in uova embrionate di pollo SPF, inattivati con beta-propiolattone e liofilizzati. I sieri, per lo schema sierologico, sono ottenuti dall'immunizzazione di polli SPF con antigeni virali inattivati emulsionati in adiuvanti oleosi e liofilizzati. I virus, per lo schema molecolare, sono prodotti a partire da matrici virali coltivate in uova embrionate di pollo SPF inattivati e conservati usando un terreno di trasporto commerciale.

I campioni prova vengono quindi testati per omogeneità e stabilità.

5.8 Circuito di sierologia per diagnostica bovina e suina

I campioni sono ottenuti dalla collezione predisposta allo scopo presso i Laboratori di "Virologia Diagnostica" e "Sierologia e malattie pianificate" della struttura SCT3. Si tratta di campioni di campo (sangue, siero, latte) e/o d'infezione sperimentale, controllati preventivamente per le prove oggetto di ring test: il controllo preventivo assegna ad ogni campione l'esito atteso. I campioni sono tutti ricontrollati per la stabilità prima della spedizione, quindi aliquotati e congelati. Un'ulteriore verifica della stabilità viene effettuata dall'organizzatore appena trascorsi i termini previsti per l'esecuzione delle analisi dei diversi schemi.

5.9 Circuito di biologia molecolare per diagnostica bovina e suina

I campioni prova sono costituiti da aliquote di sieri, organi e cellule estratte da campioni di latte positivi per i diversi patogeni incluso *Neospora caninum* e *Coxiella burnetii* oppure da cellule infettate con alcuni ceppi virali (PRRSV ceppi europeo ed americano), utilizzati tal quale oppure diluiti in matrici analoghe negative per lo stesso agente patogeno. In taluni casi, se il patogeno lo richiede, possono essere inviate inoltre aliquote di acidi nucleici già estratti o campioni in tampone di lisi o in terreno di trasporto commerciale con proprietà inattivanti e conservanti, al fine di preservare la sicurezza. I campioni sono tutti ricontrollati per l'omogeneità prima della spedizione, quindi aliquotati e congelati. La stabilità viene verificata dall'organizzatore, preventivamente all'invio, con prove su aliquote tenute a temperatura di refrigerazione per una settimana, e su un'ultima aliquota analizzata appena trascorsi i termini previsti per l'esecuzione delle analisi dei diversi schemi.

5.10 Circuito di virologia per la diagnosi della rabbia

I campioni prova sono costituiti da campioni positivi preparati a partire dal ceppo virale di riferimento inoculato per via intracerebrale in topi (encefali infetti) oppure mediante aggiunta di RNA virale oppure mediante aggiunta di linee cellulari infette da ceppo virale di riferimento. I campioni così ottenuti sono successivamente diluiti con encefalo non infetto (proveniente da mammifero) e non sono sottoposti a inattivazione virale. I campioni negativi sono costituiti da encefalo non infetto (proveniente da mammifero). I campioni sono tutti ricontrollati per l'omogeneità e la stabilità dopo liofilizzazione.

6. Subappalto

L'IZSVE non affida a terzi l'esecuzione su base continuativa di attività inerenti il circuito interlaboratorio AQUA. Qualora ritenuto necessario, in circostanze contingenti impreviste, previa comunicazione al cliente, l'ente può decidere la subfornitura di fasi di prova a laboratori esterni competenti, ad eccezione delle fasi di pianificazione di schemi di circuiti interlaboratorio, di valutazione delle prestazioni e di autorizzazione del rapporto finale. In caso di attività subappaltate l'IZSVE si assume la responsabilità delle attività eseguite da terzi.

7. Trasporto dei campioni prova

I campioni prova vengono conservati a temperatura di refrigerazione/congelamento e al fine di garantire la catena del freddo vengono confezionati in un contenitore che consente di mantenere la stessa condizione di conservazione. Il trasporto avviene:

- per i laboratori periferici dell'IZSVE tramite trasporto interno
- per i partecipanti esterni tramite ditta autorizzata al trasporto di materiale biologico. Per i campioni prova dei circuiti interlaboratorio non viene prodotto il Documento di Trasporto (DDT) in quanto l'IZSVE eroga un servizio e in tal caso la DDT non è più un documento fiscale obbligatorio.

Unica eccezione sono i campioni istologici e citologici che vengono trasportati a temperatura ambiente, per i partecipanti esterni tramite posta.

In caso di perdita o di danneggiamento dei campioni prova, l'organizzatore del circuito provvede all'invio di un ulteriore campione prova.

E' possibile per alcuni circuiti (ad es. AQUA MA) anche il ritiro dei campioni prova a carico del cliente, direttamente presso il laboratorio di produzione del circuito. In tal caso il DDT viene prodotto per tutelare il trasporto del cliente che viaggia con il proprio mezzo.

8. Informazioni inviate ai partecipanti

Le informazioni che accompagnano i campioni prova sono le seguenti:

- modalità di conservazione dei campioni prova fino all'inizio delle analisi;
- modalità di preparazione e/o allestimento dei campioni prova;
- analisi da effettuare e procedure da utilizzare, che possono essere:
 - metodi di scelta dei partecipanti*,
 - metodi indicati dal circuito;
- modalità di registrazione dei risultati su apposita modulistica;
- data di inizio analisi e termine entro cui inviare i risultati;
- modalità per la manipolazione dei campioni prova secondo i requisiti di sicurezza;
- nominativi da contattare per eventuali chiarimenti;
- i tempi di conservazione dei campioni.

* Nota: in base alla UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010 (p. 4.5), le metodiche quantitative utilizzate dai partecipanti vengono comparate per valutare la loro equivalenza tecnica. I risultati delle metodiche valutate non equivalenti vengono elaborati separatamente, laddove la numerosità dei dati lo consente; se la numerosità non è sufficiente, viene comunque riportata una breve analisi statistica descrittiva.

9. Report

I report finali specifici di ogni schema di circuito interlaboratorio contengono, oltre ai risultati di ritorno dei partecipanti (resi anonimi tramite codici identificativi), all'elaborazione degli stessi ed alla valutazione della performance dei laboratori:

- informazioni sulle specifiche analisi statistiche utilizzate (o i relativi riferimenti bibliografici) per la valutazione dell'omogeneità e della stabilità dei campioni prova e per l'elaborazione dei risultati;
- i criteri di valutazione della performance dei partecipanti;
- commenti e raccomandazioni basati sui risultati dello schema.

I report finali vengono resi disponibili con scadenze previste, specifiche per ogni schema, cui si rimanda.

In attesa del report finale, è possibile l'invio di un report parziale che renda noti la composizione del campione prova ed i risultati attesi.

Gli organizzatori dei vari circuiti si rendono disponibili per fornire ulteriori informazioni, suggerimenti e commenti ai laboratori partecipanti.

Le registrazioni delle prove effettuate sono archiviate dal responsabile del circuito per un periodo di almeno 10 anni, salvo diverse disposizioni di legge, nel qual caso prevalgono queste ultime.

10. Riservatezza

Ogni laboratorio viene identificato con un codice al fine di assicurare la privacy dei suoi dati.

Tutti gli operatori coinvolti nel circuito interlaboratorio sono tenuti alla riservatezza sia relativamente alla identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

Un gruppo di partecipanti può decidere di rinunciare alla riservatezza all'interno del gruppo, allo scopo di poter migliorare mediante discussione e collaborazione reciproca.

In alcune circostanze, particolari autorità (ad es. Regione) possono richiedere all'Ente organizzatore del circuito, di riferire sulle performance; in tale caso, i partecipanti vengono informati di questa possibilità per iscritto.

11. Comunicazione con i partecipanti

I partecipanti possono appellarsi relativamente all'esito finale fornito dall'organizzatore ed alla valutazione della loro performance.

Sono incoraggiate informazioni di ritorno dai laboratori in modo tale che i partecipanti contribuiscano attivamente allo sviluppo dello schema.

Eventuali scostamenti apportati nell'attuazione dello schema sono tempestivamente comunicati al cliente.