

Anno 2009 - 2010

**III Circuito Interlaboratorio
nazionale: isolamento
Salmonella spp. da campioni di
origine veterinaria produzione
primaria**

***III Circuito Interlaboratorio nazionale:
isolamento Salmonella spp. da campioni
di origine veterinaria _ produzione
primaria***

ANNO 2009-2010

1. Introduzione

Uno dei principali compiti dei Centri di Referenza Comunitari e Nazionali, (come stabilito anche con Regolamento CE 882/2004) è quello di organizzare circuiti interlaboratorio al fine di valutare la performance dei laboratori presenti nel territorio di competenza. Per quanto riguarda l'isolamento di *Salmonella* spp. in campioni di origine animale, la necessità di garantire elevati standard qualitativi diviene un requisito fondamentale secondo le prescrizioni del Regolamento CE 2160/2003 e dei successivi emendamenti, che prevedono l'attuazione di piani nazionali di controllo finalizzati a ridurre la prevalenza di sierotipi rilevanti di salmonella in determinate specie produttive. I laboratori che eseguono le analisi nell'ambito dei piani di controllo devono garantire elevati ed equivalenti standard qualitativi. L'attuazione periodica di circuiti interlaboratorio permette di valutare e certificare la qualità dei dati forniti dai laboratori e di assicurare la conformità delle analisi da questi eseguite.

La metodica di riferimento impiegata nel circuito di isolamento di *Salmonella* spp. destinato ai laboratori afferenti alla rete EnterVet è l'Annex D (2007) della ISO 6579:2002. Tale metodica, finalizzata all'identificazione di Salmonella in campioni prelevati a livello di produzione primaria, differisce dalla ISO esclusivamente per il tipo di terreno di arricchimento selettivo utilizzato. Mentre nella ISO viene prescritto l'utilizzo di due brodi (MKTTn e RVB) l'annex prevede l'esclusivo impiego di un terreno semisolido, il Modified Semi-solid Rappaport Vassiliadis (MSRV). Si tratta della metodica obbligatoriamente prevista nell'ambito dell'attuazione dei piani di monitoraggio e controllo di *Salmonella* spp. a livello di produzione primaria.

Questo circuito di isolamento di *Salmonella* spp. da campioni di origine animale rappresenta il terzo organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi in tale ambito.

La modalità di organizzazione, e la tipologia di campioni esaminati riproducono fedelmente quanto realizzato nell'ambito del secondo circuito. Rispetto al precedente circuito hanno aderito anche la sezione territoriale di Ragusa dell'IZS della Sicilia e la sezione territoriale dell'IZS del Mezzogiorno di Salerno.

2. Laboratori Partecipanti

Tutti gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali sono stati invitati a partecipare al circuito, attraverso i coordinatori della rete EnterVet. In alcuni casi è stata ricevuta adesione da più di un laboratorio per Istituto, ma per motivi organizzativi si è reso necessario limitare la partecipazione a 12 laboratori. A ciascun laboratorio partecipante è stato assegnato arbitrariamente un codice identificativo.

Viene di seguito riportata la lista dei laboratori partecipanti con i relativi referenti nell'ambito del circuito.

ISTITUTO	Referente
Istituto Zooprofilattico della Sardegna – Sassari - Laboratorio di Batteriologia	Dott. Lollai Stefano
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e Basilicata – Foggia – Laboratorio di Diagnostica Generale	Dott. Troiano Pasquale
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana – Roma – Struttura Diagnostica Generale	Dott. Battisti Antonio
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD) – Laboratorio di Diagnostica clinica (PD)	Dott. Iob Luciano
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta – Torino – Laboratorio di Patologia Animale	Dott.ssa Carla Grattarola
Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise “G. Caporale” – Teramo – Reparto di Microbiologia Diagnostica	Dott. Di Provido Andrea
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche – Perugia – Laboratorio di Diagnostica	Dott.ssa Magistrali Chiara
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – Sezione Diagnostica di Brescia	Dott. Alborali Loris
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno – Portici (NA) – UOS di Diagnostica	Dott. Giorgio Galiero
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno – Salerno – Sezione Diagnostica	Dott.ssa Esterina De Carlo
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia – Palermo – Sezione Diagnostica	Dott. Vicari Domenico
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia – Ragusa -	Dott. Giovanni Tumino

Tabella 1 Elenco dei Laboratori partecipanti al Circuito

3. Materiali

Materiale di riferimento

Per l'esecuzione del circuito è stato utilizzato materiale di riferimento certificato, fornito dalla Health Protection Agency (UK).

Si è provveduto ad acquistare anticipatamente il quantitativo di materiale di riferimento necessario per l'esecuzione del circuito. Il materiale di riferimento utilizzato è rappresentato da dischetti contenenti diverse concentrazioni di Salmonella. Nello specifico sono stati impiegati dei dischetti “bianchi” non contenenti alcun microrganismo, dei dischetti contenenti rispettivamente 150 e 50 ufc

(unità formanti colonia) di *Salmonella* Enteritidis (SE) e dischetti contenenti rispettivamente 30 e 10 ufc di *Salmonella* Typhimurium (STM).

Una volta consegnato il materiale di riferimento dalla ditta produttrice si è provveduto a conservarlo a -20 ± 5 °C, temperatura che permette di garantirne la stabilità per lunghi periodi. Tale materiale può comunque essere conservato, secondo le indicazioni fornite dalla ditta produttrice per brevi periodi (2-3 settimane) anche a temperatura di refrigerazione, senza che le caratteristiche di contaminazione risultino alterate.

I dischetti di riferimento sono stati forniti con documentazione atta a certificare la contaminazione media di ciascun lotto. Il livello medio di contaminazione dichiarato dalla ditta produttrice è stato calcolato valutando la contaminazione di 20 dischetti per lotto. Al fine di confermare il livello di contaminazione certificato dalla ditta produttrice si è proceduto alla conta in piastra di almeno tre dischetti per ciascun lotto, confermando i livelli di contaminazione indicati dalla ditta produttrice.

Il materiale di riferimento è stato preparato siglando ciascuna provetta (contenente un singolo dischetto) con il codice identificativo di ogni campione (in particolare sono stati siglati con numeri progressivi da 1 a 15 i dischetti da utilizzare per allestire i campioni artificialmente contaminati, e con numeri progressivi da C1 a C10 i dischetti da impiegare per allestire i controlli). A ciascun campione è stato assegnato un codice identificativo comune per tutti i laboratori partecipanti.

Ad ogni laboratorio è stato inviato il seguente materiale di riferimento:

- 4 dischetti contenti 150 ufc (unità formanti colonia) di *S. Enteritidis* (2 da aggiungere al campione di feci di origine animale negativo per *Salmonella* e 2 da analizzare tal quali);
- 6 dischetti contenti 50 ufc di *S. Enteritidis* (4 da aggiungere al campione di feci di origine animale negativo per *Salmonella* e 2 da analizzare tal quali);
- 4 dischetti contenti 30 ufc di *S. Typhimurium* (2 da aggiungere al campione di feci di origine animale negativo per *Salmonella* e 2 da analizzare tal quale);
- 6 dischetti contenti 10 ufc di *S. Typhimurium* (4 da aggiungere al campione di feci di origine animale negativo per *Salmonella* e 2 da analizzare tal quali);
- 5 dischetti “bianchi” non contenti *Salmonella* (3 da aggiungere al campione di origine animale negativo per *Salmonella* e 2 da analizzare tal quali).

Il materiale di riferimento è stato recapitato a ciascun partecipante da una ditta specializzata per il trasporto di materiale biologico.

Feci di origine animale negative per Salmonella

Per costituire i campioni di origine animale artificialmente contaminati sono stati inviati ai laboratori, oltre al materiale di riferimento, anche le feci di origine animale negative per Salmonella. In particolare sono state impiegate feci di pollo prelevate presso gli isolatori gestiti dal Laboratorio di Virologia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. L'ambiente in cui sono stabulati questi animali è controllato, inoltre ai polli vengono somministrati esclusivamente alimenti privi di contaminanti e infine non sono trattati con alcuna sostanza farmacologicamente attiva che possa alterare la normale flora microbica.

Prima di inviare tale materiale ai laboratori partecipanti, al fine di assicurare la negatività per Salmonella delle feci prelevate, si è proceduto suddividendo le feci prelevate in un numero di aliquote (di circa 220 g di feci ciascuna) pari al numero dei partecipanti. Quindi, da ciascuna aliquota, sono stati prelevati 10 g di campione e si è proceduto alla ricerca di *Salmonella* spp. secondo la metodica definita nell'Annex D della ISO 6579:2002.

Le aliquote di campione destinate ai singoli partecipanti sono state conservate in sacchetti sigillati, mantenuti a temperatura di refrigerazione, fino alla spedizione.

Calendario delle attività

Le attività pianificate nell'ambito del circuito sono state svolte secondo la tempistica definita nel calendario inviato anticipatamente ai partecipanti. Tale calendario è stato trasmesso ai laboratori in tempo utile per reperire il materiale necessario per l'esecuzione delle prove, la seconda settimana di Febbraio 2010. Il materiale è stato inviato la settimana dal 15 al 19 marzo e lo studio è stato effettuato nella settimana successiva.

Documenti trasmessi ai laboratori partecipanti

A ciascun laboratorio partecipante è stata inviata anticipatamente rispetto all'esecuzione delle analisi, documentazione relativa:

- alla tipologia di materiale consegnato e alle modalità di conservazione;
- alla modalità di preparazione dei campioni (Allegato I). In particolare i laboratori partecipanti dovevano allestire i campioni artificialmente contaminati sciogliendo ciascuno dei 15 dischetti (numerati da 1 a 15) in 90 ml di APTS, quindi aggiungendo 10 g di feci per ciascun campione. Per i campioni controllo (C1-C10) ciascun dischetto, disciolto in 90 ml di APTS, doveva essere testato tal quale, senza aggiunta di feci. Nel caso del campione C11, dovevano essere esaminati 90 ml di APTS senza aggiunta né di un dischetto di materiale di riferimento, né delle feci; infine il campione C12 era rappresentato da 90 ml di APTS a cui sono stati aggiunti 10 g di feci;

- alla procedura da utilizzare per l'esecuzione della prova;
- al test report in cui riportare le informazioni relative alla prova e i risultati ottenuti.

4. Analisi dei dati

Specificità, Sensibilità e Accuratezza ottenute complessivamente dai laboratori partecipanti analizzando i campioni di controllo e i campioni di prova artificialmente contaminati sono state calcolate come indicato di seguito.

Specificità:
$$\frac{\text{Numero di risultati negativi}}{\text{Numero totale di campioni realmente negativi}} \times 100\%$$

Sensibilità:
$$\frac{\text{Numero di risultati positivi}}{\text{Numero totale di campioni realmente positivi}} \times 100\%$$

Accuratezza:
$$\frac{\text{Numero di risultati corretti (positivi e negativi)}}{\text{Numero totale di campioni (positivi e negativi)}} \times 100\%$$

Sono state inoltre sottoposte a verifica tutte le informazioni trasmesse mediante i test report dai partecipanti al fine di evidenziare eventuali anomalie nell'esecuzione del protocollo.

5. Risultati

Dati tecnici

I terreni utilizzati dai singoli partecipanti sono riportati nella tabella 2.

Tre laboratori hanno utilizzato in parallelo al MSR/V anche un secondo terreno di arricchimento (RVB oppure brodo selenite).

Per quanto riguarda i terreni selettivi-differenziali, come previsto dalla procedura, tutti i partecipanti hanno utilizzato XLD. Il BGA è stato utilizzato come secondo terreno selettivo differenziale da 5 laboratori, il Salmonella-Shigella agar da 2 laboratori, il Rambach da 2 laboratori, l'Hecktoen da 2 laboratori, il BrillianceS da 1 laboratorio, l'XLT4 da 1 laboratorio, un terreno cromogeno da un altro laboratorio.

Per le prove biochimiche 1 laboratorio ha utilizzato esclusivamente il TSI, un altro laboratorio solo un kit commerciale, i rimanenti laboratori hanno impiegato diverse prove biochimiche, come previsto dalla procedura, in parallelo o meno a kit di conferma biochimica commerciali.

Codice del laboratorio	Terreno di arricchimento selettivo	Terreno di arricchimento selettivo-differenziale	Prove di conferma biochimica
1	MSRV	XLD Salmonella shigella agar	TSI Kit commerciale API 20 E
2	MSRV	XLD Rambach agar McConkey agar	TSI Urea agar Lisina Decarbossilasi Kit commerciale API 20 E
3	MSRV	XLD Salmonella shigella agar	TSI Urea agar Lisina Decarbossilasi
4	MSRV	XLD BGA	TSI Rapid ID 32 E
5	MSRV	XLD Rambach agar	TSI Salmonella test serum Kit commerciale API 20 E
6	MSRV	XLD BGA	TSI Urea agar Lisina Decarbossilasi Kit commerciale API 20 E
7	MSRV	XLD BGA	TSI Antisiero Salmonella polivalente BD BBL Enterotube II
8	MSRV	XLD Brilliance Salmonella	Vitek card gn-
9	MSRV	XLD BSA	TSI Lisina Decarbossilasi Siero agglutinazione antigene O Biolog
10	MSRV	XLD BGA	TSI Urea agar Lisina Decarbossilasi MRVP medium Simmons citrate agar Agar mobilità Difco™ Salmonella O
11	MSRV	XLD BGA	TSI Agglutinazione con antisiero poly A-I E Vi Micro metodo Kit commerciale API 20 E
12	MSRV	XLD BGA	TSI Urea agar Lisina Decarbossilasi TTM

Tabella 2 Terreni di arricchimento selettivo, terreni di arricchimento selettivi-differenziali e prove di conferma biochimica utilizzati dai singoli laboratori partecipanti

Tutti i laboratori partecipanti hanno applicato correttamente le temperature di incubazione previste dal protocollo analitico.

Risultati campioni controllo (C11-C12)

Nessun laboratorio partecipante ha isolato *Salmonella* spp. dai campioni C11, costituito da terreno di pre-arricchimento esaminato tal quale (senza aggiunta né di feci negative per salmonella, né del

dischetto di materiale di riferimento) e C12, costituito da feci negative per salmonella esaminate senza l'aggiunta del dischetto di materiale di riferimento.

Campioni di controllo "bianchi" (2)

I due campioni di controllo contaminati con dischetti bianchi (non contenuti *Salmonella* spp.) sono stati identificati come negativi da tutti i dodici laboratori partecipanti.

"Bianchi" Controllo	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabella 3 Numero di isolamenti di *Salmonella* spp. dei laboratori partecipanti relativi ai dischetti controllo bianchi (C 8 e C9)

Campioni di controllo Salmonella Enteritidis 50 ufc (3)

Tutti i laboratori partecipanti hanno fornito esito positivo per i due campioni di controllo contaminati con SE 50 ufc.

SE 50 ufc	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Tabella 4 Numero di isolamenti di *Salmonella* dei laboratori partecipanti relativi ai dischetti contaminati con *S. Enteritidis* 50 ufc

Campioni di controllo Salmonella Enteritidis 150 ufc (1)

I due campioni di controllo contaminati con dischetto di SE 150 ufc sono stati identificati come positivi da tutti i dodici laboratori partecipanti.

SE 150 ufc	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Tabella 5 Numero di isolamenti di *Salmonella* spp. dei laboratori partecipanti relativi al dischetto contaminato con *S. Enteritidis* 150 ufc

Campioni di controllo Salmonella Typhimurium 10 ufc (3)

Undici laboratori partecipanti hanno fornito esito positivo per i due campioni di controllo contaminati con STM 10 ufc. Un laboratorio (codice identificativo 1) invece ha isolato *Salmonella* spp. rispettivamente da uno dei due campioni.

STM 10 ufc	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Tabella 6 Numero di isolamenti di *Salmonella* dei laboratori partecipanti relativi ai dischetti contaminati con *S. Typhimurium* 10 ufc

Campioni di controllo Salmonella Typhimurium 30 ufc (1)

Tutti i dodici laboratori partecipanti hanno fornito esito positivo per i due campioni di controllo contaminati con STM 30 ufc.

STM 30 ufc	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Tabella 7 Numero di isolamenti di *Salmonella* dei laboratori partecipanti relativi al dischetto contaminato con *S. Typhimurium* 30 ufc (C 2)

Di seguito vengono sintetizzati i risultati prendendo in considerazione i campioni di controllo ed i diversi livelli di contaminazione.

CAMPIONI DI CONTROLLO		MSRV
Dischetti “bianchi” (2 per lab)	N° di campioni	24
	Campioni negativi	24
	Specificità in %	100%
SE 50 ufc/dischetto (2 per lab)	N° di campioni	24
	Campioni positivi	24
	Sensibilità in %	100%
SE 150 ufc/dischetto (2 per lab)	N° di campioni	24
	Campioni positivi	24
	Sensibilità in %	100%
STM 10 ufc/dischetto (2 per lab)	N° di campioni	24
	Campioni positivi	23
	Sensibilità in %	96%
STM 30 ufc/dischetto (2 per lab)	N° di campioni	24
	Campioni positivi	24
	Sensibilità in %	100 %
Tutti i dischetti contaminati Salmonella con	N° di campioni	96
	Campioni positivi	95
	Sensibilità in %	99%
Tutti i dischetti	N° di campioni	120
	Campioni corretti	119
	Accuratezza in %	99%

Tabella 8 Valori di specificità, sensibilità e accuratezza complessivi ottenuti valutando le performances ottenute dei laboratori partecipanti (12) sui campioni controllo esaminati senza l’aggiunta di feci negative per *Salmonella* spp.

Il valore percentuale di specificità ottenuto dei laboratori partecipanti è pari al 100%. La sensibilità dei controlli è risultata rispettivamente pari al 100% per i campioni contaminati con SE 50, per quelli contaminati con SE 150 e con STM 30. Per i campioni controllo contaminati con STM 10 ufc la sensibilità ottenuta è pari a 96%. Ne consegue che la sensibilità complessiva, ottenuta per i campioni controllo contenenti *Salmonella*, è risultata pari a 99%. Anche il valore di accuratezza risulta pari al 100%.

Campioni artificialmente contaminati

Dischetti bianchi (3)

I tre campioni contaminati con “dischetti bianchi” a cui sono state aggiunte le feci negative per *Salmonella* spp. sono stati identificati come negativi da 11 su 12 laboratori partecipanti. Un laboratorio (codice identificativo 2) invece ha identificato come negativi due campioni su tre.

“Bianchi”	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabella 9 Numero di isolamenti di *Salmonella* dei laboratori partecipanti relativi ai campioni di feci contaminati con dischetti “bianchi”

Dischetti Salmonella Enteritidis 50 ufc (4)

Due laboratori partecipanti (codice identificativo 5 e 6) hanno fornito esito positivo per i quattro campioni contaminati con SE 50 ufc. Due laboratori (codice identificativo 9 e 12) hanno isolato *Salmonella* spp. da tre dei quattro campioni, quattro laboratori (codice identificativo 1, 2, 3 e 4) invece hanno isolato *Salmonella* spp. rispettivamente da uno dei quattro campioni e gli ultimi 4 laboratori (codice identificativo 7, 8, 10 e 11) non hanno isolato *Salmonella* da nessuno dei 4 campioni.

SE 50 ufc	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	1	1	1	1	4	4	0	0	3	0	0	3

Tabella 10 Numero di isolamenti di *Salmonella* dei laboratori partecipanti relativi ai campioni contaminati con *S. Enteritidis* 50 ufc

Dischetti Salmonella Enteritidis 150 ufc (2)

Due laboratori (codice identificativo 1 e 5) hanno fornito esito positivo per tutti e due i campioni contaminati con SE 150 ufc. Quattro laboratori (codice identificativo 4, 6, 9 e 12) hanno identificato come positivo uno su due campioni e sei laboratori (codice identificativo 2, 3, 7, 8, 10, 11) non hanno identificato come positivo nessuno dei due campioni contaminati con SE 150 ufc.

SE 150 ufc	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	2	0	0	1	2	1	0	0	1	0	0	1

Tabella 11 Numero di isolamenti di *Salmonella* spp. dei laboratori partecipanti relativi ai campioni contaminati con *S. Enteritidis* 150 ufc

Dischetti Salmonella Typhimurium 10 ufc (4)

Novi dei dodici laboratori hanno fornito esito positivo per tutti e quattro i campioni contaminati con STM 10 ufc (codice identificativo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11). Tre laboratori hanno identificato (codice identificativo 9, 10, 12) come positivo tre su quattro campioni contaminati con STM 10 ufc.

STM 10 ufc	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3

Tabella 12 Numero di isolamenti di *Salmonella* dei laboratori partecipanti relativi ai campioni contaminati con *S. Typhimurium* 10 ufc

Dischetti Salmonella Typhimurium 30 ufc(2)

Undici su dodici laboratori partecipanti hanno fornito esito positivo per i due campioni contaminati con STM 30 ufc. Un laboratorio (codice identificativo 12) ha identificato come positivo 1 dei 2 campioni contaminati con STM 30 ufc.

STM 30 ufc	Codici di laboratorio											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MSRV	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1

Tabella 13 Numero di isolamenti di *Salmonella* dei laboratori partecipanti relativi ai campioni contaminati con *S. Typhimurium* 30 ufc

Specificità, Sensibilità e Accuratezza

Di seguito vengono sintetizzati i risultati prendendo in considerazione i campioni di prova ed i diversi livelli di contaminazione.

CAMPIONI DI PROVA		MSRV
Dischetti “bianchi” (3 per lab)	N° di campioni	36
	Campioni negativi	35
	Specificità in %	97 %
SE 50 ufc/dischetto (4 per lab)	N° di campioni	48
	Campioni positivi	18
	Sensibilità in %	37 %
SE 150 ufc/dischetto (2 per lab)	N° di campioni	24
	Campioni positivi	8
	Sensibilità in %	33%
STM 10 ufc/dischetto (4 per lab)	N° di campioni	48
	Campioni positivi	45
	Sensibilità in %	94%
STM 30 ufc/dischetto (2 per lab)	N° di campioni	24
	Campioni positivi	23
	Sensibilità in %	96 %
Tutti i dischetti contaminati Salmonella con	N° di campioni	144
	Campioni positivi	94
	Sensibilità in %	65 %
Tutti i dischetti	N° di campioni	180
	Campioni corretti	129
	Accuratezza in %	72%

Tabella 14 Valori di specificità, sensibilità e accuratezza complessivi ottenuti valutando le performances ottenute dei laboratori partecipanti (12) sui campioni artificialmente contaminati con feci negative per *Salmonella* spp.

In tabella 14 sono riportati i valori di sensibilità, specificità e accuratezza dei campioni contenuti dischetti positivi per *Salmonella* artificialmente contaminati con feci negative.

Il valore percentuale complessivo di specificità è pari a 97 %. La sensibilità dei campioni è risultata rispettivamente pari a 37%, 33%, 94% e 96% per i dischetti contaminati con SE 50, SE 150, STM 10 e STM 30. Complessivamente per tutti i campioni artificialmente contaminati è stato ottenuto un valore di sensibilità pari a 65%. Per quanto riguarda l'accuratezza è stato riportato un valore pari a 72%.

Valutazione delle performance dei laboratori partecipanti

Il centro di Referenza ha individuato i seguenti criteri di accettabilità per la valutazione dei risultati relativi ai campioni di controllo:

CONTROLLI		CRITERIO DI ACCETTABILITÀ	N° campioni identificati correttamente/ N° totale dei campioni
CAPSULE A CONCENTRAZIONI MAGGIORI (ufc)	STM* 30 / SE** 150	100%	4/4
CAPSULE A CONCENTRAZIONI MINORI (ufc)	STM 10/ SE 50	50%	2/4
BIANCHI		0	0/2

*STM: *S. Typhimurium*

**SE: *S. Enteritidis*

Tutti i laboratori partecipanti hanno ottenuto un giudizio conforme per quanto riguarda l'analisi dei campioni di controllo.

Per i campioni (capsule+feci) invece sono stati individuati i seguenti criteri di accettabilità:

CAMPIONI		N° campioni identificati correttamente/ N° totale dei campioni
CRITERIO DI ACCETTABILITÀ		
CAPSULE+FECI	Almeno 50% di campioni identificati correttamente	6/12
BIANCHI	Massimo 1 isolamento non corretto*	1/3

*lo stesso criterio è adottato dal Centro di Referenza Europeo nell'ambito del circuito interlaboratorio organizzato annualmente, dal momento che non è possibile garantire al 100% che tutti i campioni di feci utilizzati siano negativi

Considerando complessivamente gli errori riscontrati tra i controlli e i campioni, le performance dei laboratori partecipanti sono state quindi giudicate nel seguente modo:

ESITI		
N.ERRORI COMPLESSIVO (CAMPIONI+CONTROLLI)	VALUTAZIONE	LAB (CODICE IDENTIFICATIVO)
0-1	ottimo	5 , 6
2-3	molto buono	1 , 9
4-5	buono	3 , 4 , 12
6	accettabile	2 , 7 , 8 , 11
≥7	non accettabile	10

Due laboratori (codice identificativo 5 e 6) hanno ottenuto una performance “ottima”, due laboratori (codice identificativo 1 e 9) una performance “molto buona”, tre laboratori (codice identificativo 3, 4 e 12) una performance “buona” e quattro laboratori una performance accettabile (2, 7, 8 e 11). Un solo laboratorio partecipante (codice identificativo 10) non ha ottenuto un giudizio conforme.

Per tale laboratorio è stato organizzato un follow-up secondo le medesime modalità adottate nel corso del precedente circuito. Nell’ambito del follow-up la performance di tale laboratorio è risultata eccellente dal momento che per tutti i campioni e i controlli esaminati sono stati ottenuti esiti conformi.