

Anno 2011

XI Circuito interlaboratorio di sierotipizzazione Salmonella spp.

1. Partecipanti

Nel mese di dicembre 2011 il Centro di Riferenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) ha organizzato l'undicesimo ring trial di sierotipizzazione di *Salmonella* spp. a cui hanno preso parte 2 laboratori privati e 10 Istituti Zooprofilattici, di seguito elencati:

- Laboratorio privato GESCO
- Laboratorio privato TRE VALLI
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana (Roma)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno (Portici-Napoli)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta (Torino)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise (Teramo)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (Perugia)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (sezione di Macerata)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia-Romagna (Brescia)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia (Palermo)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata (Foggia)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna (Sassari)

2. Ceppi di *Salmonella* spp. utilizzati

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

I ceppi utilizzati per il ring trial provengono dalla ceppoteca del Centro di Riferenza Nazionale per le Salmonellosi, che a sua volta li aveva ricevuti dal Laboratorio Comunitario di Riferimento di Bilthoven (NL) in occasione di ring-trial a cui aveva precedentemente partecipato. La selezione dei ceppi da includere nel circuito è stata condotta considerando prevalentemente i sierotipi che rivestono un particolare interesse epidemiologico, i ceppi per cui si è registrato un incremento nelle prevalenze e gli isolati per cui sono state riscontrate particolari problematiche nella sierotipizzazione nel corso delle precedenti edizioni del circuito. In Tabella 1 sono riportate le formule antigeniche dei ceppi testati.

A ciascun laboratorio partecipante è stato assegnato un codice per garantire l'anonimato dei dati ed al tempo stesso per poter confrontare i risultati, inoltre due settimane prima dell'inizio della prova il protocollo e il test report sono stati inviati tramite e-mail a ciascun laboratorio.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Viale dell'Università, 10 35020 Legnaro (PD)
Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi

Ceppo N.	Sierotipo	Antigene O	Antigene H
1	S. Carno	1,3,19	z: 1,w
2	S. Bredeney	<u>1</u> ,4,12, <u>27</u>	1,v: 1,7
3	S. Chester	<u>1</u> ,4,[5],12	e,h: e,n,x
4	S. Anatum	3	e,h: 1,6
5	S. Virchow	6,7, <u>14</u>	r: 1,2
6	S. Infantis	6,7, <u>14</u>	r: 1,5
7	S. Typhimurium	<u>1</u> ,4,[5],12	i: 1,2
8	S. 4,[5],12:i:-	<u>1</u> ,4,[5],12	i: -
9	S. Enteritidis	<u>1</u> ,9,12	g,m: -
10	S. Llandoff	1,3,19	z ₂₉ : [z ₆]
11	S. Blockley	6,8	k: 1,5
12	S. diarizonae	50	r: 1,5
13	S. Oranienburg	6,7, <u>14</u>	m,t: [z ₅₇]
14	S. Colindale	6,7	r: 1,7
15	S. Worthington	<u>1</u> ,13,23	z: 1,w
16	S. Agona	<u>1</u> ,4,[5],12	f,g,s: [1,2]
17	S. Meleagridis	3,10	e,h: 1,w
18	S. Winslow	13,22	z: 1,5
19	S. Thompson	6,7, <u>14</u>	k: 1,5
20	S. Bracknell	13,23	b: 1,6

Tabella 1: Formule antigeniche dei ceppi di *Salmonella spp.* utilizzati (schema di Kauffmann-White 2007)

3. Risultati

Il presente report si articola nelle seguenti parti:

- risultati ottenuti dai singoli istituti partecipanti;
- risultati ottenuti per ciascun ceppo;
- confronto tra i risultati ottenuti dai partecipanti nei ring trial organizzati fino ad oggi;
- valutazione statistica delle “performance” dei singoli laboratori partecipanti.

3.1 Risultati ottenuti dai singoli istituti partecipanti

In tabella 2 sono riportati i risultati della sierotipizzazione ripartiti per laboratorio partecipante.

Due laboratori (3 e 4) hanno tipizzato correttamente 19 ceppi su 20, 3 laboratori (2, 6 e 7) 18 ceppi su 20 mentre gli altri 7 laboratori hanno sierotipizzato correttamente da 17 a 15 ceppi su 20.

Nel complesso, per quanto riguarda gli antigeni somatici i laboratori partecipanti hanno commesso 18 errori (11 identificazioni non corrette e 7 tipizzazioni incomplete), mentre nella tipizzazione degli antigeni ciliari sono stati commessi 24 errori (18 identificazioni non corrette e 6 tipizzazioni incomplete). Il 92,5% degli antigeni somatici, il 90% degli antigeni ciliari e l'85% 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 del laboratorio	Antigeni O			Antigeni H			Sierotipo		
	+	-	n.i./t.	+	-	n.i./t.	+	-	n.i./t.
1	17	2	1	17	3	0	15	3	2
2	19	1	0	19	1	0	18	2	0
3	20	0	0	19	1	0	19	1	0
4	20	0	0	19	1	0	19	1	0
5	19	1	0	17	3	0	16	4	0
6	18	2	0	20	0	0	18	2	0
7	19	1	0	19	1	0	18	2	0
8	19	1	0	16	4	0	16	4	0
9	19	1	0	17	3	0	15	5	0
10	19	1	0	20	0	0	16	0	4
11	17	1	2	17	1	2	17	1	2
12	16	0	4	16	0	4	17	3	0

Tabella 2: Risultati della sierotipizzazione per laboratorio

+ = tipizzazione corretta; - = tipizzazione errata; n.i./t. = risultato non indicato, tipizzazione non effettuata; tipizzazione generica, non completa; esito dubbio

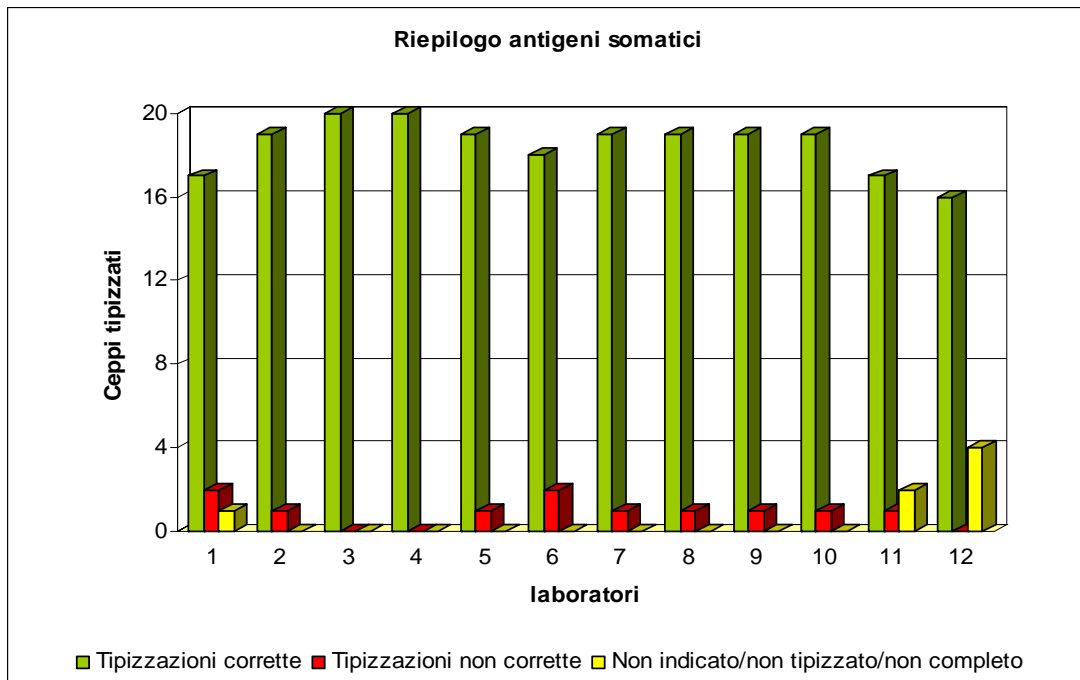


Grafico 1: Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici

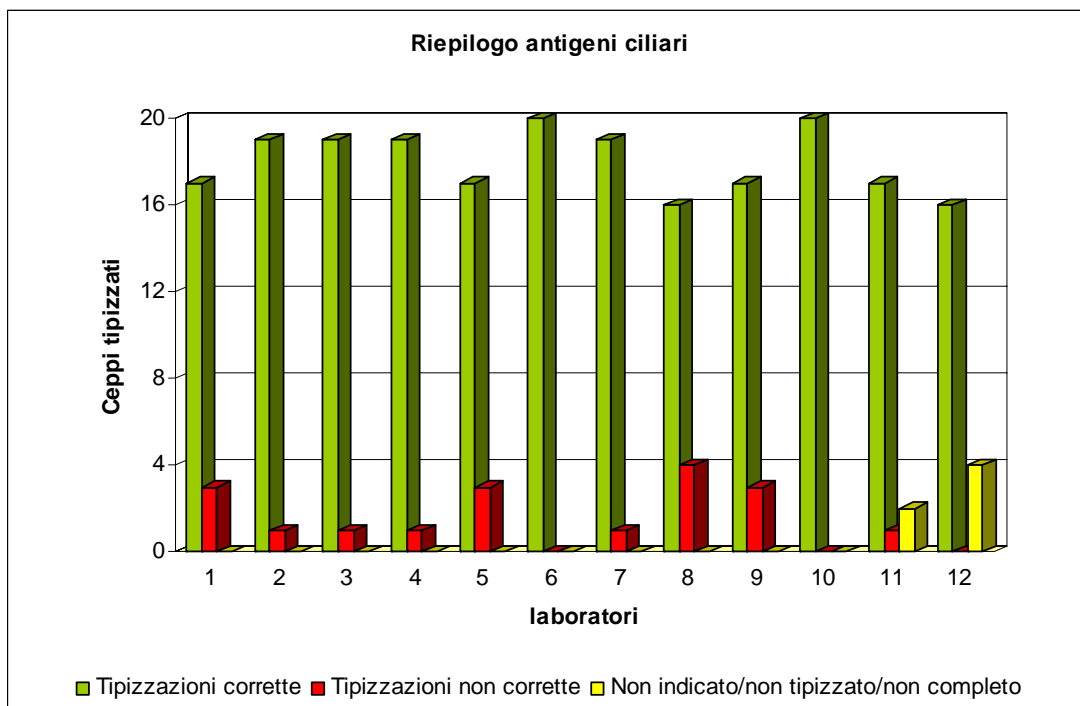


Grafico 2: Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari

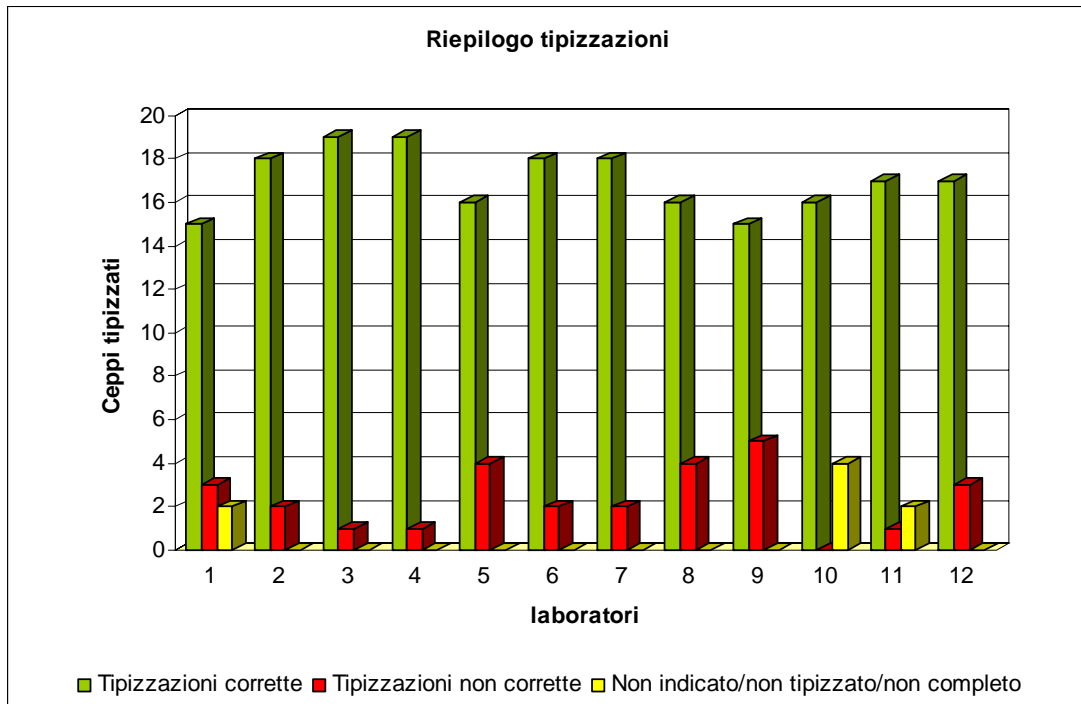


Grafico 3: Risultati identificazione dei sierotipi

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Viale dell'Università, 10 35020 Legnaro (PD)
Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi

3.2 Risultati per ceppo

I risultati della sierotipizzazione espressi per ceppo sono riportati in Tabella 3. Otto dei 20 isolati testati sono stati tipizzati in modo corretto da tutti i dodici laboratori partecipanti.

N ceppo	Sierotipo	Antigene O		Antigene H		Sierotipo	
		+	-	+	-	+	-
1	S. Carno	6	6	11	1	5	7
2	S. Bredeney	12	0	12	0	11	1
3	S. Chester	12	0	9	3	9	3
4	S. Anatum	12	0	12	0	12	0
5	S. Virchow	12	0	12	0	12	0
6	S. Infantis	12	0	11	1	11	1
7	S. Typhimurium	12	0	12	0	12	0
8	S. 4,[5],12:i:-	12	0	12	0	12	0
9	S. Enteritidis	12	0	12	0	12	0
10	S. Llandoff	9	3	10	2	9	3
11	S. Blockley	12	0	11	1	11	1
12	S. diarizonae	8	4	9	3	8	4
13	S. Oranienburg	12	0	8	4	7	5
14	S. Colindale	12	0	11	1	11	1
15	S. Worthington	11	1	11	1	11	1
16	S. Agona	12	0	12	0	12	0
17	S. Meleagridis	12	0	12	0	12	0
18	S. Winslow	9	3	8	4	7	5
19	S. Thompson	12	0	12	0	12	0
20	S. Bracknell	10	2	9	3	8	4

Tabella 3: Risultati della sierotipizzazione per ceppo

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Viale dell'Università, 10 35020 Legnaro (PD)
Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi

I campioni per i quali sono emersi i maggiori problemi sono stati: *S. Carno* (n 1), *S. Llandoff* (n 10), *S. diarizonae* (n 12), *S. Oranienburg* (n 13), *S. Winslow* (n 18) e *S. Bracknell* (n 20).

La tabella 4 riporta i risultati dei ceppi che hanno causato i maggiori problemi nella sierotipizzazione.

N. ceppo	Sierotipo	Antigeni O	Antigeni H	Codice laboratorio
1	<i>S. Carno</i>	1,3,19	z: 1,w	
	<i>S. Clerkenwell</i>	3,10	z: 1,w	1, 2, 7, 9
	<i>S. Clerkenwell</i>	3	z: 1,w	6
	<i>S. Newrochelle</i>	3,10	k: 1,w	8
	Non indicato	3	z: 1,w	10
10	<i>S. Llandoff</i>	1,3,19	z ₂₉ : [z ₆]	
	<i>S. Senftenberg</i>	19	g,s,t: -	1
	<i>S. Tennessee</i>	6,7	z ₂₉ : -	6
	Non eseguita	-	-	11
12	<i>S. diarizonae</i>	50	r: 1,5	
	Tipizzazione non conclusiva	Non disponibile	r: 1,5	1
	<i>S. arizonae</i>	50	r: -	5
	Non indicato	OME	r: 1,5 (7)	10
	Non eseguita	-	-	11
	<i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	Polivalente O	Polivalente H	12
13	<i>S. Oranienburg</i>	6,7,14	m,t: -	
	<i>S. Oakey</i>	6,7	m,t: z ₆₄	3, 5
	<i>S. Winston</i>	6,7	m,t: 1,6	7
	<i>S. Othmarschen</i>	6,7	g,m: -	9
	Non indicato	6,7	m,t	10
18	<i>S. Winslow</i>	13,22	z: 1,5	
	Non distinguibile tra <i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II) e <i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	1,13,23	1,5	1
	<i>S. Ibadan</i>	13,22	b: 1,5	5
	<i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i>	1,13,22	z: 1,5	9
	<i>S. Handen</i>	1,13,23	d: 1,2	11
	<i>S. enterica</i>	Polivalente O	Polivalente H	12
20	<i>S. Bracknell</i>	13,23	b: 1,6	
	<i>S. Mississippi</i>	1,13, 23	b: 1,5	1, 9
	<i>S. Oudwij</i>	13,22	b: 1,6	5
	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	Polivalente O	Polivalente H	12

Tabella 4: Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione

Per quanto riguarda *S. Carno* 7 laboratori su 12 non hanno tipizzato correttamente il ceppo; di questi 5 l'hanno sierotipizzato come *S. Clerkenwell*, uno come *S. Newrochelle* ed infine un laboratorio ha identificato correttamente gli antigeni sia somatici che ciliari ma non ha attribuito un nome. 5 su 7 laboratori non hanno tipizzato correttamente gli antigeni somatici ed uno non ha identificato correttamente sia gli antigeni somatici che i ciliari.

Nel caso dei sierotipi considerati "rilevanti" (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Infantis* e *S. Hadar*) nell'ambito del piano nazionale di controllo di Salmonella nei gruppi di riproduttori *Gallus gallus*, 1 solo laboratorio non ha identificato correttamente un ceppo di *S. Infantis*.

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

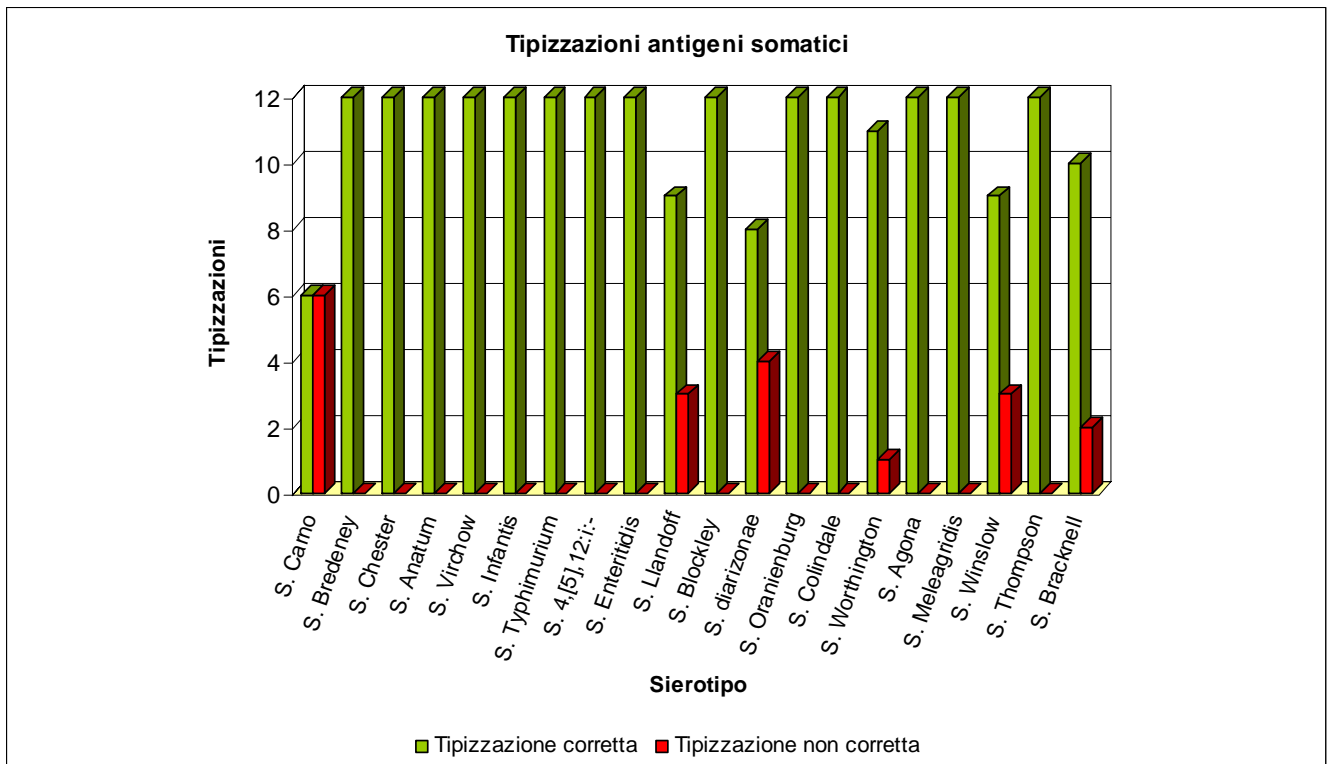


Grafico 4: Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici

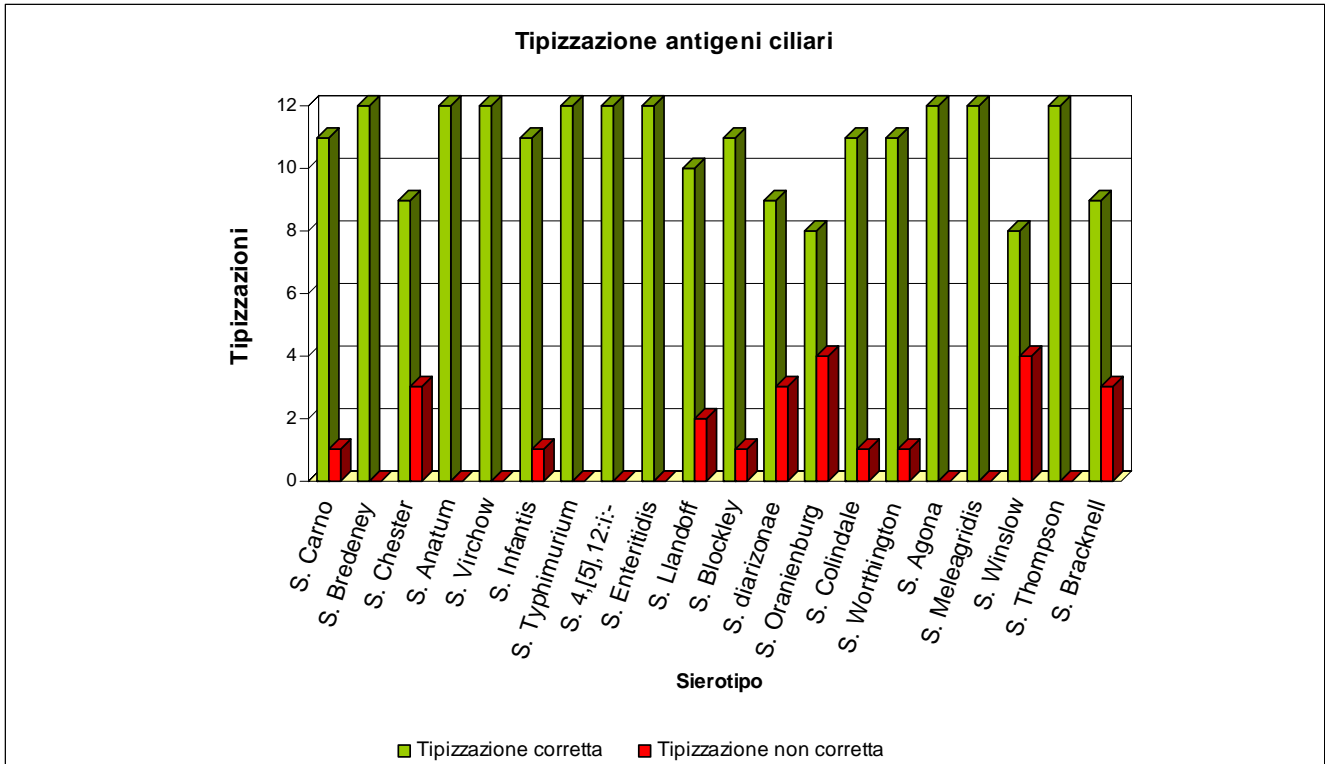


Grafico 5: Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari

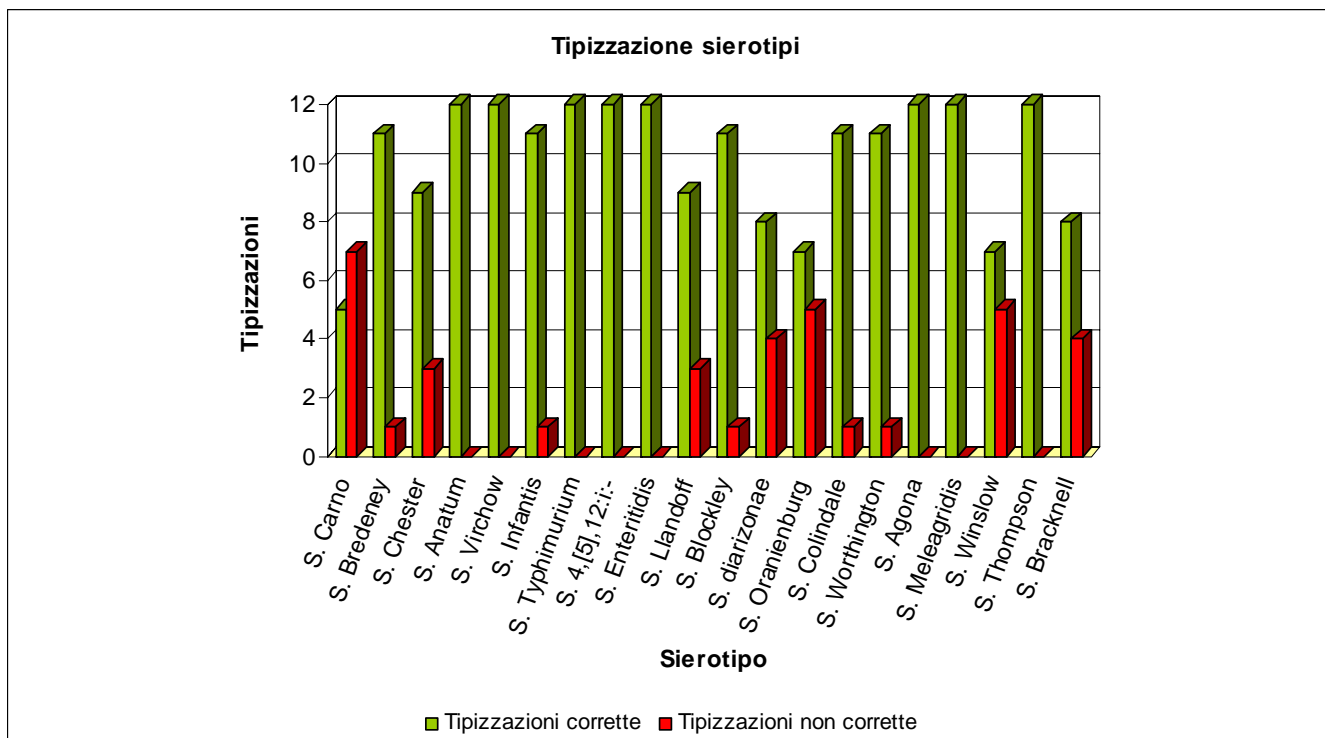


Grafico 6: Risultati identificazione dei sierotipi

4. Analisi dei risultati dei Ring Trial effettuati dal 2009 al 2011

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 ring trial di sierotipizzazione effettuati dal 2009 al 2011. 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.

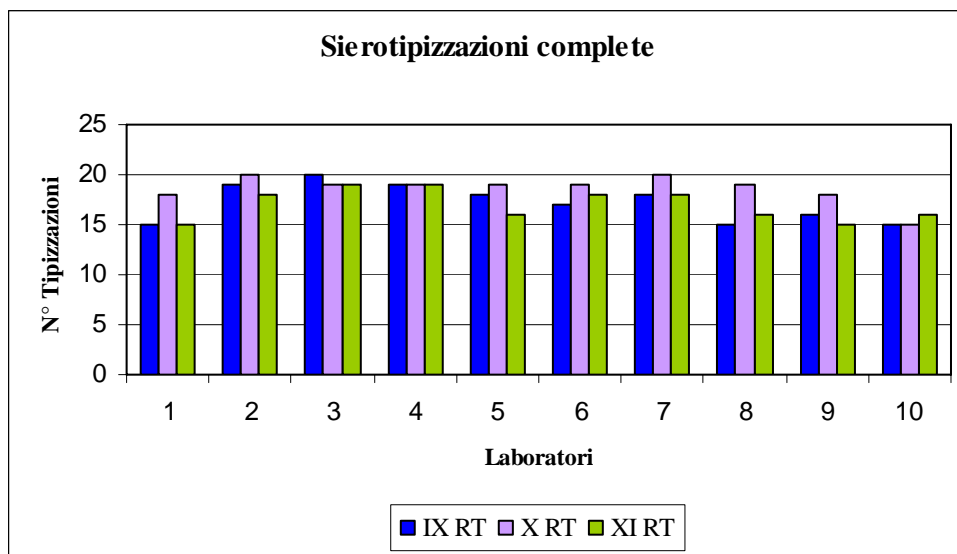


Grafico 7: Identificazione corretta dei sierotipi per laboratorio e per ring trial

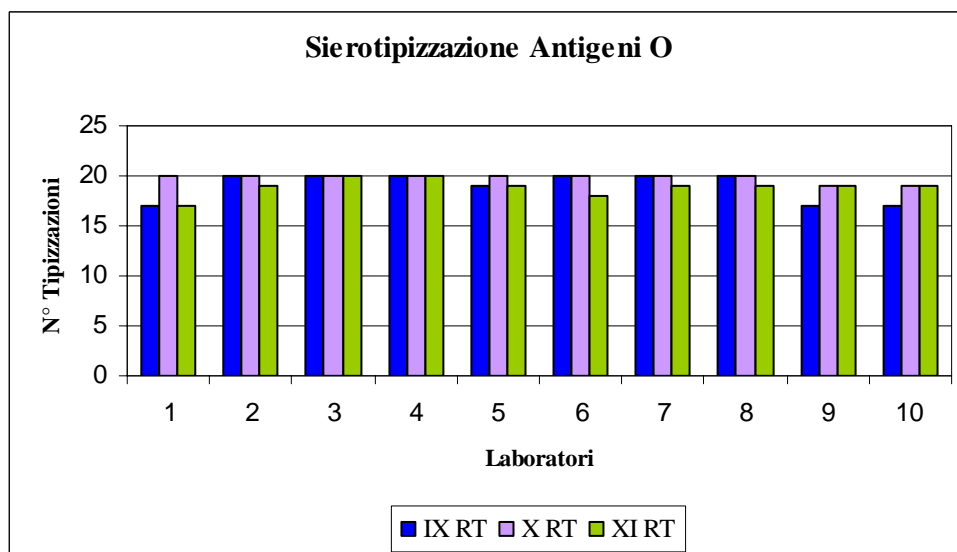


Grafico 8: Identificazione corretta degli antigeni O per laboratorio e per ring trial

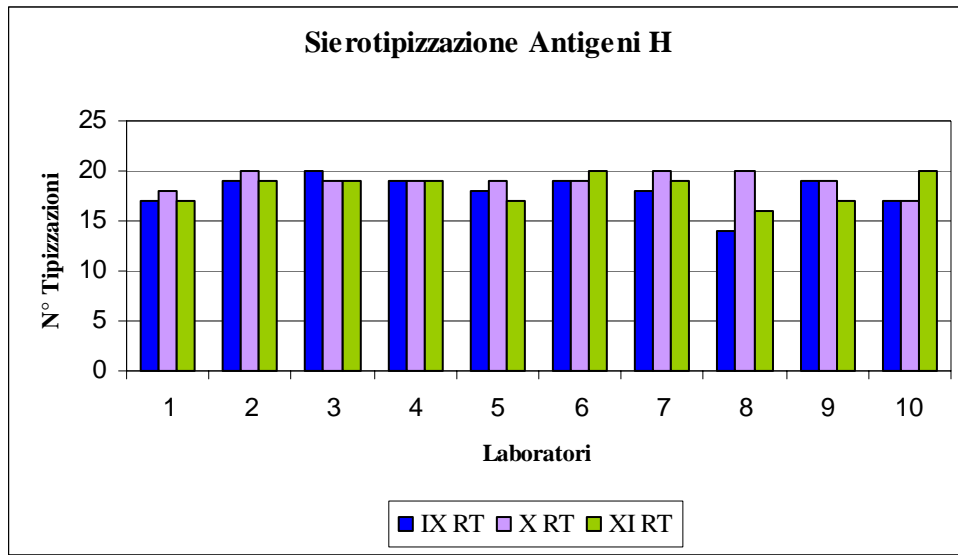


Grafico 9: Identificazione corretta degli antigeni H per laboratorio e per ring trial

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 del laboratorio Gold Standard, rappresentato dall'ente organizzatore del circuito. Il valore di K ottenuto per ciascun laboratorio e l'interpretazione della statistica con il relativo livello di significatività p-value è riportata in tabella 5.

Tabella 5 Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante

	LAB 1	LAB 2	LAB 3	LAB 4	LAB 5	LAB 6
K	0.7403	0.8953	0.9475	0.9475	0.7917	0.8953
P	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	LAB 7	LAB 8	LAB 9	LAB 10	LAB 11	LAB 12
K	0.8953	0.7917	0.7403	0.7917	0.8433	0.8433
P	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Tabella 6 Scala di Landis & Koch

K	Livello di 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

Confrontando i risultati ottenuti dai singoli laboratori con scala di Landis & Koch (tabella 6) che fornisce un'indicazione per interpretare le performance di un laboratorio sulla base del valore K ottenuto, si può concludere che 7 laboratori partecipanti hanno ottenuto un'"ottima" performance, mentre per i 5 rimanenti laboratori la valutazione è risultata "buona".

Valutando i dati complessivi la concordanza dell'intero circuito è risultata pari a 0.7559 (p=0.000) e quindi è stata giudicata come "buona".