

*Anno 2017*

## **Risultati XVII Circuito interlaboratorio di sierotipizzazione *Salmonella* spp.**

## Sommario

1. Introduzione .....	3
2. Gestione organizzativa e pianificazione .....	3
3. Sezione SA1 (Circuito di sierotipizzazione di <i>Salmonella</i> spp.) .....	4
3.1 Partecipanti .....	4
3.2 Materiali e Metodi .....	4
4. Spedizione del materiale .....	5
5. Risultati .....	5
5.1 Espressione dei risultati .....	5
5.2 Risultati dei singoli laboratori partecipanti .....	5
5.3 Risultati per ceppo testato .....	8
6. Valutazione della performance .....	12
7. Analisi dei risultati dei circuiti interlaboratorio effettuati dal 2014 al 2017 .....	12
8. Elaborazione statistica .....	14
8.1 Analisi della concordanza .....	14
9. Sezione SA2 (Circuito sierotipizzazione "Short") .....	15
9.1 Partecipanti .....	15
9.2 Materiali e metodi .....	16
10. Spedizione del materiale .....	16
11. Risultati .....	16
11.1 Espressione dei risultati .....	16
11.2 Risultati dei singoli laboratori partecipanti .....	17
11.3 Risultati per ceppo testato .....	19
12. Valutazione della performance .....	21
13. Analisi dei risultati dei circuiti interlaboratorio (SA2) effettuati dal 2014 al 2017 .....	22
14. Analisi della concordanza .....	23
15. Conclusioni .....	25

## Sommario Tabelle

Tab. 1 Calendario attività .....	3
Tab. 2 - Formule antigeniche dei ceppi di <i>Salmonella</i> spp. utilizzati (schema di Kauffmann-White 2007) .....	5
Tab. 3 - Espressione dei risultati .....	5
Tab. 4 - Risultati della sierotipizzazione per laboratorio .....	6
Tab. 5 - Risultati della sierotipizzazione per ceppo .....	8
Tab. 6 - Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione (n.i: non identificato) .....	9
Tab. 7 – Penalità per ciascun laboratorio partecipante .....	12
Tab. 8 - Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante e complessivo del circuito .....	14
Tab. 9 - Scala di Landis & Koch .....	14
Tab. 10 - Formule antigeniche dei ceppi di <i>Salmonella</i> spp. inclusi nel circuito SA 2 (schema di Kauffmann-White 2007) .....	16

Tab. 11 - Espressione dei risultati [SA2] - (S.E: S. Enteritidis; S.T: S. Typhimurium; STV: Variante Monofasica di S. Typhimurium) .....	17
Tab. 12 - Risultati della sierotipizzazione per laboratorio partecipante [SA2] .....	17
Tab. 13 – Risultati sierotipizzazione espressi per ceppo. ....	19
Tab. 14 - Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione [SA2].....	20
Tab. 15 – Penalità [SA2].....	22
Tab. 16 - Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante [SA2].....	23
Tab. 17 - Scala di Landis & Koch [SA2] .....	23

## Sommario Grafici

Grafico 1 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio.....	6
Grafico 2 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio.....	7
Grafico 3 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratori.....	7
Grafico 4 -Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo .....	10
Grafico 5 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo .....	11
Grafico 6 - Risultati identificazione dei sierotipi.....	11
Grafico 7 - Identificazione corretta dei sierotipi per laboratorio e per circuito .....	13
Grafico 8 - Identificazione corretta degli antigeni O per laboratorio e per circuito .....	13
Grafico 9 - Identificazione corretta degli antigeni H per laboratorio e per circuito.....	13
Grafico 10 - Concordanza dei risultati di ciascun laboratorio partecipante con l'esito atteso e concordanza complessiva tra i laboratori.....	14
Grafico 11 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo .....	15
Grafico 12 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio.....	18
Grafico 13 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio.....	18
Grafico 14 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratorio.....	19
Grafico 15 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo .....	20
Grafico 16 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo .....	21
Grafico 17 - Risultati identificazione dei sierotipi.....	21
Grafico 18 – Sierotipizzazioni complete .....	22
Grafico 19 - Sierotipizzazione Antigeni O.....	22
Grafico 20 - Sierotipizzazione Antigeni H.....	23
Grafico 21 - Performance per laboratorio .....	24
Grafico 22 - Performance nel tempo .....	24

## 1. INTRODUZIONE

Il presente report descrive i risultati relativi al XVII Circuito di sierotipizzazione *Salmonella* spp. (edizione 2017) organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS).

Il circuito consta di due schemi distinti:

- **SA1-17** relativo alla sierotipizzazione di **20 ceppi** di *Salmonella* spp.
- **SA2-17** relativo all'identificazione dei sierotipi *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica di *S. Typhimurium* di **10 ceppi** di *Salmonella* spp.

La partecipazione al circuito è rivolta ai laboratori degli Istituti Zooprofilattici del territorio nazionale e ad altre strutture pubbliche o private.

L'obiettivo principale del presente circuito interlaboratorio è quello di valutare la capacità dei laboratori partecipanti di identificare il sierotipo in isolati di *Salmonella* indipendentemente dalla loro fonte di origine.

Nell'ambito della legislazione europea, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e variante monofasica di *S. Typhimurium* sono riconosciuti come sierotipi rilevanti negli allevamenti avicoli e rappresentano il criterio microbiologico per la carne fresca di pollo, pertanto, per alcuni laboratori, la sierotipizzazione di ceppi di *Salmonella* è mirata all'identificazione esclusiva di questi tre sierotipi.

Per tale ragione si è organizzato uno schema di circuito specifico (SA2) finalizzato alla valutazione della capacità dei partecipanti di identificare tali sierotipi in maniera esclusiva.

## 2. GESTIONE ORGANIZZATIVA E PIANIFICAZIONE

A fine anno nel sito web dell'IZSVe (<http://www.izsvenezie.it/servizi/altri-servizi/circuitointerlaboratorio-aqua/>) sono stati pubblicati i calendari degli schemi disponibili per l'anno successivo e la relativa scheda di sicurezza.

A ciascun laboratorio partecipante in fase di iscrizione, dal gestionale Aquaweb, è stato assegnato un codice alfa numerico identificativo.

La partecipazione al Circuito Interlaboratorio è regolamentata dall'iscrizione mediante il gestionale dedicato Aquaweb, al quale i partecipanti possono accedere utilizzando le credenziali personali.

Nel gestionale Aquaweb sono presenti i documenti specifici di ciascun schema.

Nel mese di febbraio 2017 a tutti i partecipanti è stata inviata la comunicazione relativa alla pubblicazione della pianificazione del circuito con i dettagli delle attività previste:

Si riporta di seguito il calendario di pianificazione degli schemi SA1 e SA2:

Data	Attività
Entro <b>31/01/2017</b>	Scadenza iscrizioni Aquaweb
Entro <b>21/02/2017</b>	Invio mail di pianificazione
<b>20/03/2017 - 24/03/2017</b>	Spedizione ceppi
Dal <b>03/04/2017</b>	Analisi dei ceppi da parte di ciascun laboratorio partecipante
Entro <b>05/05/2017</b> per coloro che partecipano ad una <b>singola</b> sezione ( <b>SA1 o SA2</b> )	 Test report da inviare al CRS
Dal <b>06/05/2017</b> al <b>12/05/2017</b> per coloro che partecipano ad <b>entrambe</b> le sezioni ( <b>SA1 o SA2</b> )	
Entro <b>31/05/2017</b>	 Controllo risultati e invio risultati attesi da parte del CRNS ai partecipanti

Tab. 1 Calendario attività

I risultati del circuito sono stati inseriti da ciascun partecipante nel Test Report reso disponibile nel gestionale Aquaweb.

Nel Test Report sono state raccolte anche informazioni relativamente ai sieri utilizzati e al metodo applicato da ciascun partecipante.

### 3. SEZIONE SA1 (CIRCUITO DI SIEROTIPIZZAZIONE DI SALMONELLA SPP.)

#### 3.1 PARTECIPANTI

Nel mese di aprile 2017 il Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) ha organizzato il diciassettesimo circuito di sierotipizzazione di *Salmonella* spp. a cui hanno preso parte 3 laboratori privati e 10 laboratori afferenti ad Istituti Zooprofilattici, ciascuno dei quali è stato identificato con un codice numerico assegnato arbitrariamente.

#### 3.2 MATERIALI E METODI

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

I ceppi utilizzati per il circuito, provenienti dalla collezione del Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS), includevano per lo più isolati ricevuti dal Laboratorio Comunitario di Riferimento di Bilthoven (NL) in occasione dei circuiti interlaboratorio.

La selezione dei ceppi da includere nel circuito è stata effettuata per garantire una certa variabilità in termini di antigeni somatici e flagellari espressi e includendo i sierotipi che vengono considerati rilevanti nell'ambito dei piani di controllo nazionale di *Salmonella* negli allevamenti avicoli.

Nella tabella 2 sono riportate le formule antigeniche dei ceppi inviati ai partecipanti.

Ceppo N.	Sierotipo	Antigene O	Antigene H
1	S. Bispebjerg	1,4,[5],12	a: e,n,x
2	S. Albany	8,20	Z <sub>4</sub> ,Z <sub>24</sub> :-
3	S. Montevideo	6,7,14	g,m[p],s[1,2,7]
4	S. Ahmadi	1,3,19	d:1,5
5	S. Hadar	6,8	z10:e,n,x
6	S. Infantis	6,7,14	r :1,5
7	S. Orion	3,10[15][15,34]	y:1,5
8	S. Newport	6,8,20	e,h:1,2
9	S. Typhimurium	1,4,[5],12	i:1,2
10	S. Rissen	6,7,14	f,g,: -
11	S. Kintambo	1,13,23	m,t :-
12	Variante Monofasica di S. Typhimurium	1,4,[5],12	i:-
13	S. Saintpaul	1,4[5],12	e,h:1,2
14	S. Reading	1,4,[5],12	e,h:1,5
15	S. Teddington	1,4,12,27	y:1,7
16	S. Enteritidis	1,9,12	g,m: -
17	S. Duisburg	1,4,12,27	e,n,z15:-
18	S. Ohio	6,7,14	b:l,w

<b>19</b>	S. Chester	1,4[5],12	e,h,:e,n,x
<b>20</b>	S. Virchow	6,7,14	r :1,2

**Tab. 2** - Formule antigeniche dei ceppi di *Salmonella* spp. utilizzati (schema di Kauffmann-White 2007)

Ai partecipanti è stato richiesto di sierotipizzare i campioni di prova secondo le rispettive procedure in uso presso il laboratorio.

#### 4. SPEDIZIONE DEL MATERIALE

I campioni prova del circuito sono stati confezionati per il trasporto di materiale biologico e inviati alla temperatura di refrigerazione.

Un laboratorio ha segnalato di aver ricevuto un campione prova senza l'etichetta identificativa che per esclusione ha considerato come S-03.

#### 5. RISULTATI

La presente sezione del report si articola nelle seguenti parti:

- espressione dei risultati;
- descrizione dei risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti;
- descrizione dei risultati relativi a ciascun ceppo;
- valutazione della performance;
- confronto tra i risultati ottenuti dai partecipanti nei ring trial organizzati dal 2014 al 2017;
- valutazione statistica delle "performance" dei singoli laboratori partecipanti.

##### 5.1 ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Per ciascun ceppo in esame è stato richiesto ai partecipanti di indicare il sierotipo identificato con l'evidenza dell'antigene somatico e degli antigeni ciliari riscontrati (Tabella3).

<b>Ceppo</b>	<b>Sierotipo</b>	<b>Antigene O</b>	<b>Antigene H</b>
<b>N.</b>	<b>nome</b>	Somatici evidenziati	Ciliari evidenziati

**Tab. 3** - Espressione dei risultati

##### 5.2 RISULTATI DEI SINGOLI LABORATORI PARTECIPANTI

Nella tabella 4 sono riportati i risultati della sierotipizzazione ripartiti per laboratorio partecipante.

Sei laboratori (codici L366; L426; L449; L582; L646; L698) hanno tipizzato correttamente 19 ceppi su 20, due laboratori 17 ceppi su 20 (L452; L539), un laboratorio (L540) 16 ceppi su 20, mentre i rimanenti quattro (codice L453; L472; L474; L475) hanno tipizzato correttamente tutti i ceppi.

Nel complesso, tutti i laboratori hanno identificato correttamente gli antigeni somatici dell'intero pannello di ceppi esaminati, mentre nella tipizzazione degli antigeni ciliari vi sono state 13 identificazioni non corrette e 3 identificazione non complete, per un totale di tipizzazione non corrette/complete.

Il 100% degli antigeni somatici e il 93.8% degli antigeni ciliari /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 lab	Antigeni somatici			Antigeni ciliari			Sierotipo		
	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo	Tipizz. corrette	Tipizz. non corrette	Non indicato/ non tipizzato/ non completo
L366	20	0	0	19	0	1	19	0	1
L426	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L449	20	0	0	19	0	1	19	0	1
L452	20	0	0	17	3	0	17	3	0
L453	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L472	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L474	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L475	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L539	20	0	0	17	3	0	17	3	0
L582	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L646	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L540	20	0	0	16	4	0	16	4	0
L698	20	0	0	19	0	1	19	0	1

Tab. 4 - Risultati della sierotipizzazione per laboratorio

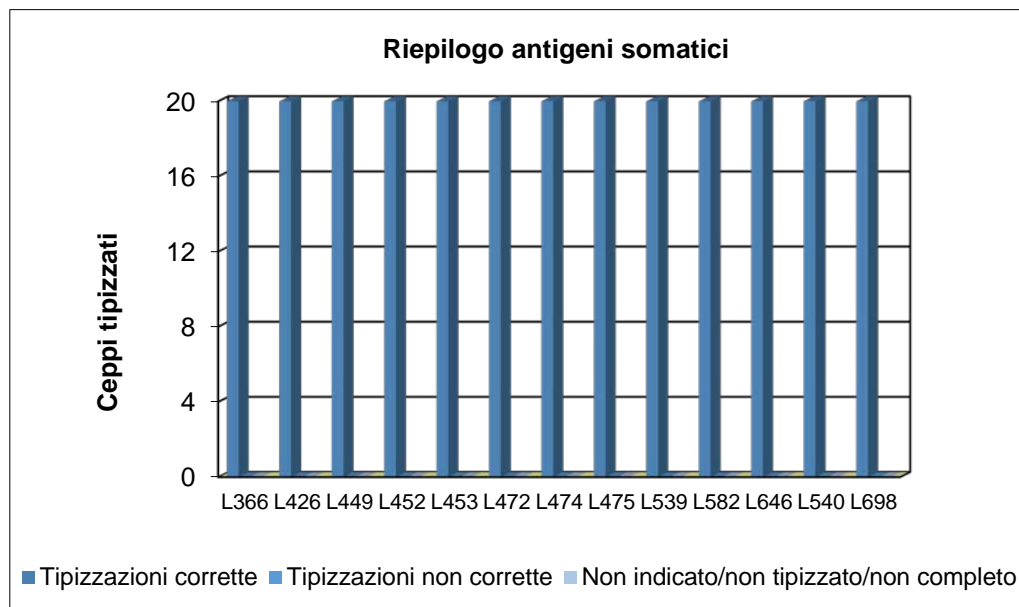
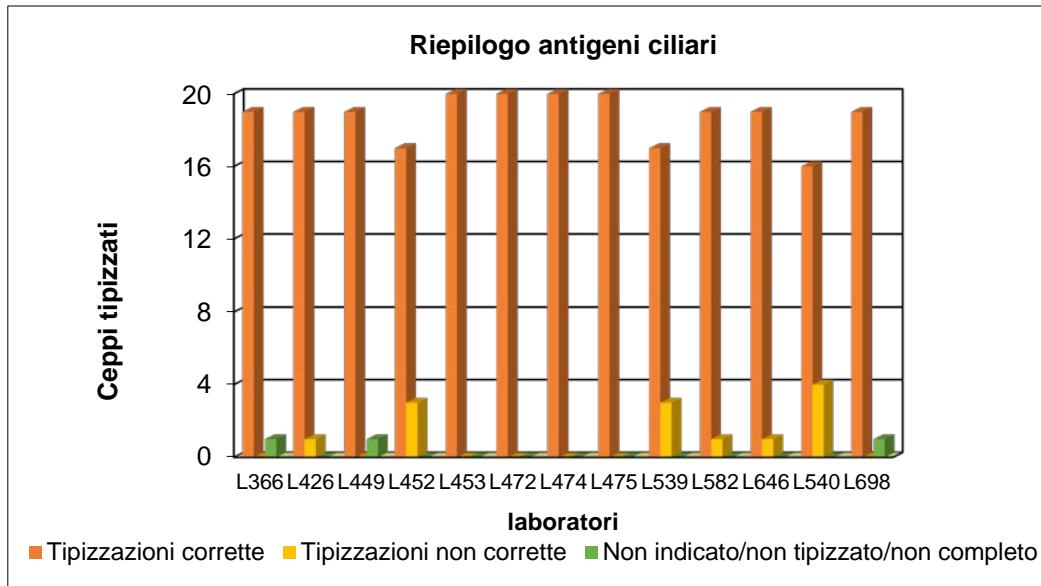
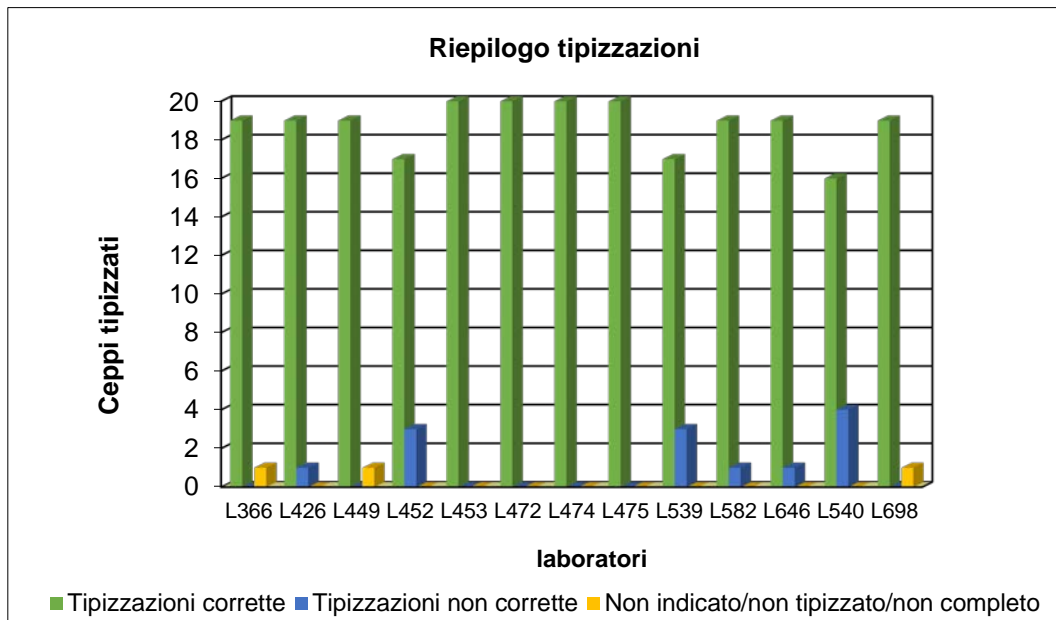


Grafico 1 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio



**Grafico 2** - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio



**Grafico 3** - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratori



### 5.3 RISULTATI PER CEPPLO TESTATO

I risultati della sierotipizzazione espressi per ceppo sono riportati in Tabella 5.

Dieci dei venti ceppi testati sono stati tipizzati in modo corretto da tutti i tredici laboratori partecipanti.

	Antigeni somatici		Antigeni ciliari		Identificazione sierotipo	
	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta
S. Bispebjerg	13	0	13	0	13	0
S. Albany	13	0	11	2	11	2
S. Montevideo	13	0	12	1	12	1
S. Ahmadi	13	0	10	3	10	3
S. Hadar	13	0	13	0	13	0
S. Infantis	13	0	13	0	13	0
S. Orion	13	0	12	1	12	1
S. Newport	13	0	12	1	12	1
S. Typhimurium	13	0	13	0	13	0
S. Rissen	13	0	13	0	13	0
S. Kintambo	13	0	10	3	10	3
Variante Monofasica di S. Typhimurium	13	0	11	2	11	2
S. Saintpaul	13	0	13	0	13	0
S. Reading	13	0	13	0	13	0
S. Teddington	13	0	13	0	13	0
S. Enteritidis	13	0	13	0	13	0
S. Duisburg	13	0	13	0	13	0
S. Ohio	13	0	12	1	12	1
S. Chester	13	0	12	1	12	1
S. Virchow	13	0	12	1	12	1

Tab. 5 - Risultati della sierotipizzazione per ceppo

I sierotipi per i quali sono emersi problemi d'identificazione sono stati: S. Albany (ceppo n. 2), S. Montevideo (ceppo n.3), S. Ahmadi (ceppo n. 4), S. Orion (ceppo n.7), S. Newport (ceppo n. 8), S. Kintambo (ceppo n.11), Variante monofasica di S. Typhimurium (ceppo n.12), S. Ohio, (ceppo n. 18), S. Chester (ceppo n.19) e S. Virchow (ceppo n. 20).

Nella tabella 6 vengono elencati gli errori di ciascun laboratorio partecipante associati ai sierotipi per i quali si sono verificati problemi d'identificazione.

N. ceppo	Sierotipo	Antigeni O	Antigeni H	Codice laboratorio
<b>S2</b>	<b>S. Albany</b>	8,20	z4,z24:-	CRNS
	Indentificazione non completa	8,20	z4:-	L449
	poliagglutinante			L698
<b>S3</b>	<b>S. Montevideo</b>	6,7,	g,m,s:-	CRNS
	S. Othmarschen	6,7	g,m:-	L540
<b>S4</b>	<b>S. Ahamadi</b>	3,19	d:1,5	CRNS
	S.Wanatah	1,3,19	d:1,7	L452- L646
	S. Korlebu	13*,19	z:1,5	L540
<b>S7</b>	<b>S. Orion</b>	3,10	y:1,5	CRNS
	<b>S. London</b>	3,10	l,v:1,6	L539
<b>S8</b>	<b>S. Newport</b>	6,8	e,h:1,2	CRNS
	<b>S. Cremieu</b>	6,8	e,h:1,6	L539
<b>S11</b>	<b>S. Kintambo</b>	13,23	m,t:-	CRNS
	Indentificazione non completa	23	m,t	L366
	<b>S. Agbeni</b>	13,23	g,m,t:-	L426
	<b>S. Agbeni</b>	1,13,23	g,m,t:-	L452
<b>S12</b>	<b>Variante monofasica di S. Typhimurium</b>	4,5	i : -	CRNS
	S. Typhimurim	4,5	l:1,2	L452
	S. Agama	4,12	l:1,6	L540
<b>S18</b>	<b>S. Ohio</b>	6,7	b:l,w	CRNS
	S. Adjme	6,7	b:1,6	L539
<b>S19</b>	<b>S. Chester</b>	4	e,h:e,n,x	CRNS
	S. Sandiego	4,12	e,h:e,n,Z <sub>15</sub>	L540
<b>S20</b>	<b>S. Virchow</b>	6,7	r:1,2	CRNS
	S. Nigeria	6,7	r:1,6	L582

Tab. 6 - Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione

\*il somatico è stato riportato come indicato nel test report ma si tratta di un evidente errore di compilazione.

Per il ceppo S2, sierotipo **S. Albany**, per un laboratorio non è stata possibile l'identificazione in quanto non aveva a disposizione gli antisieri specifici Z<sub>23</sub> e Z<sub>24</sub> e ha quindi riportato la formula antigenica con il secondo ciliare negativo con due sierotipi possibili (Corvallis e Albany), mentre un altro laboratorio non ha identificato la formula antigenica in quanto il ceppo è risultato "poliagglutinante".

Per il ceppo S3 **S. Montevideo** un laboratorio non ha identificato in modo completo la componente flagellare e ha conseguentemente attribuito il sierotipo errato.

Per il ceppo S4, **S. Ahmadi**, tre laboratori non hanno identificato correttamente gli antigeni ciliari.

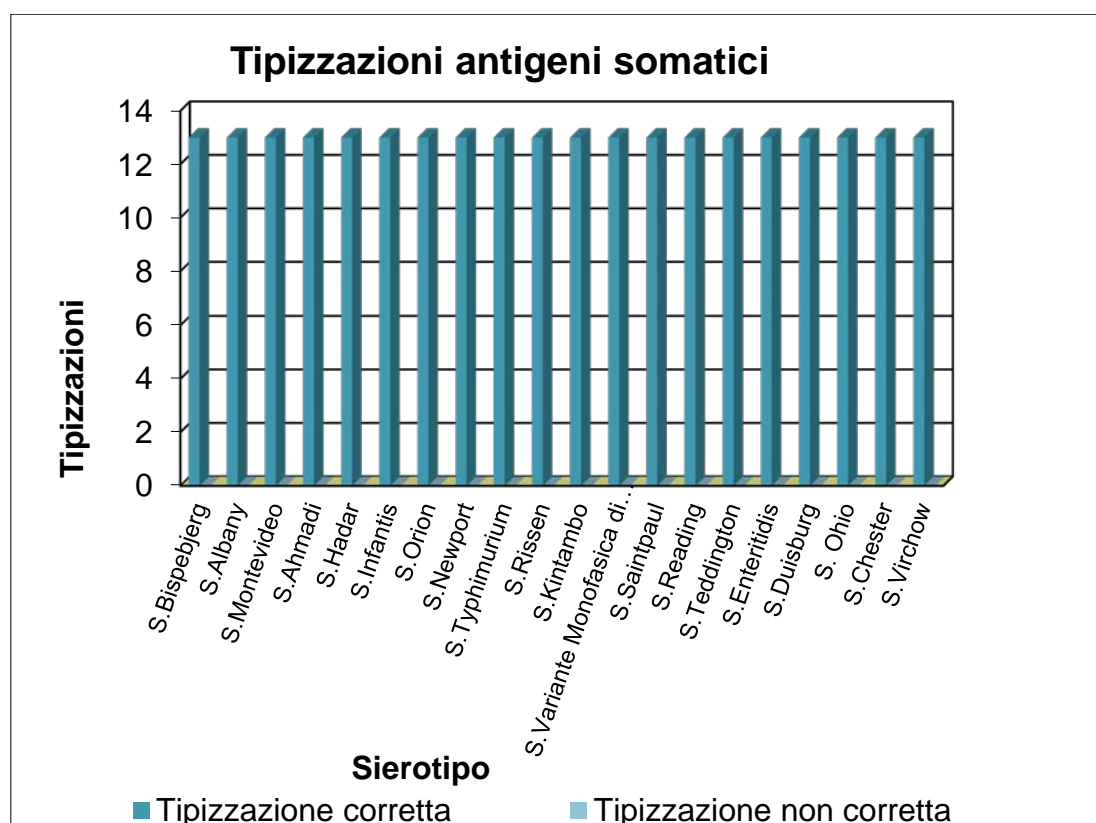
Per il ceppo S7, **S. Orion**, un laboratorio non ha identificato correttamente entrambi gli antigeni ciliari.

Per il ceppo S8, **S. Newport**, un laboratorio non ha identificato correttamente un antigene ciliare.

Per il ceppo S11, **S. Kintambo**, tre laboratori non hanno tipizzato correttamente la componente ciliare; per un laboratorio in particolare non è stata possibile l'identificazione degli antigeni ciliari in quanto non disponeva dell'antisiero flagellare "g" e quindi non era possibile discriminare i sierotipi *S. Agbeni* e *S. Kintambo*. Per il ceppo S12, **Variante monofasica di S. Typhimurium**, è stata identificata erroneamente la componente ciliare da due laboratori.

Per i sierotipi **S. Ohio (S18)**, **S. Chester, (S19)** e **S. Virchow (S20)** il secondo antigene ciliare non è stato tipizzato correttamente da parte di un laboratorio partecipante.

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 per sierotipo

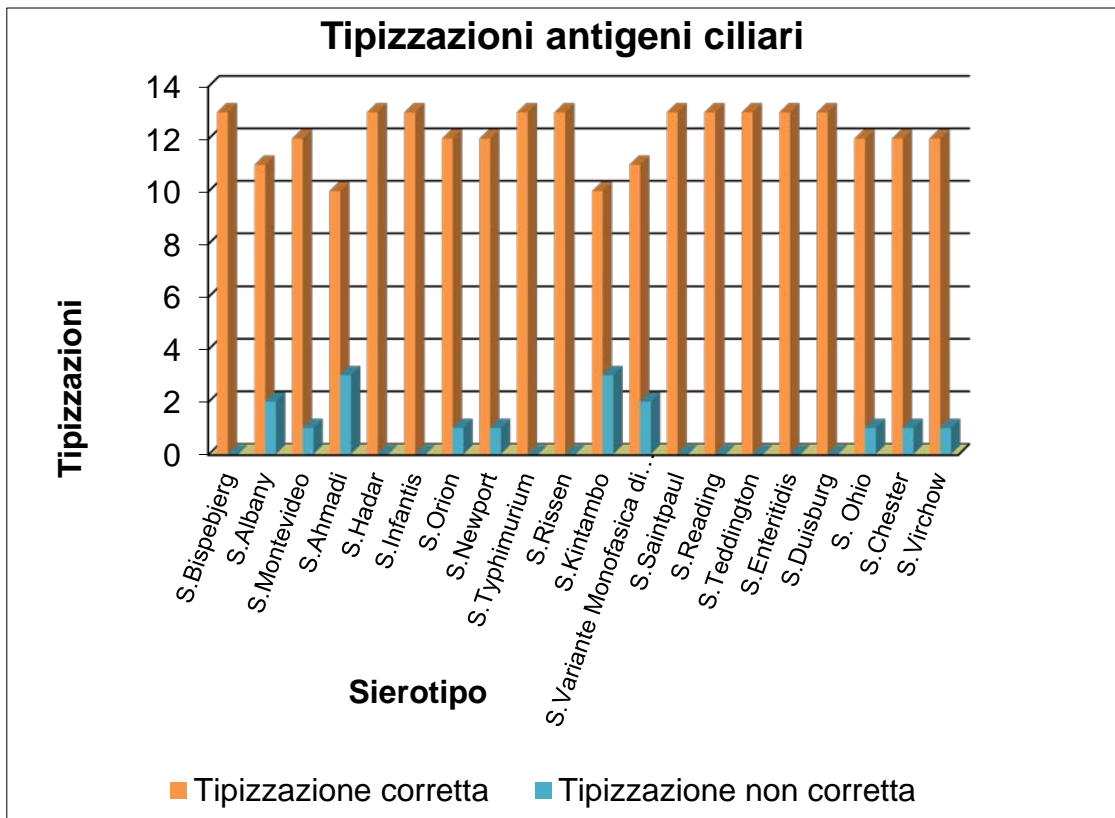


Grafico 5 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo

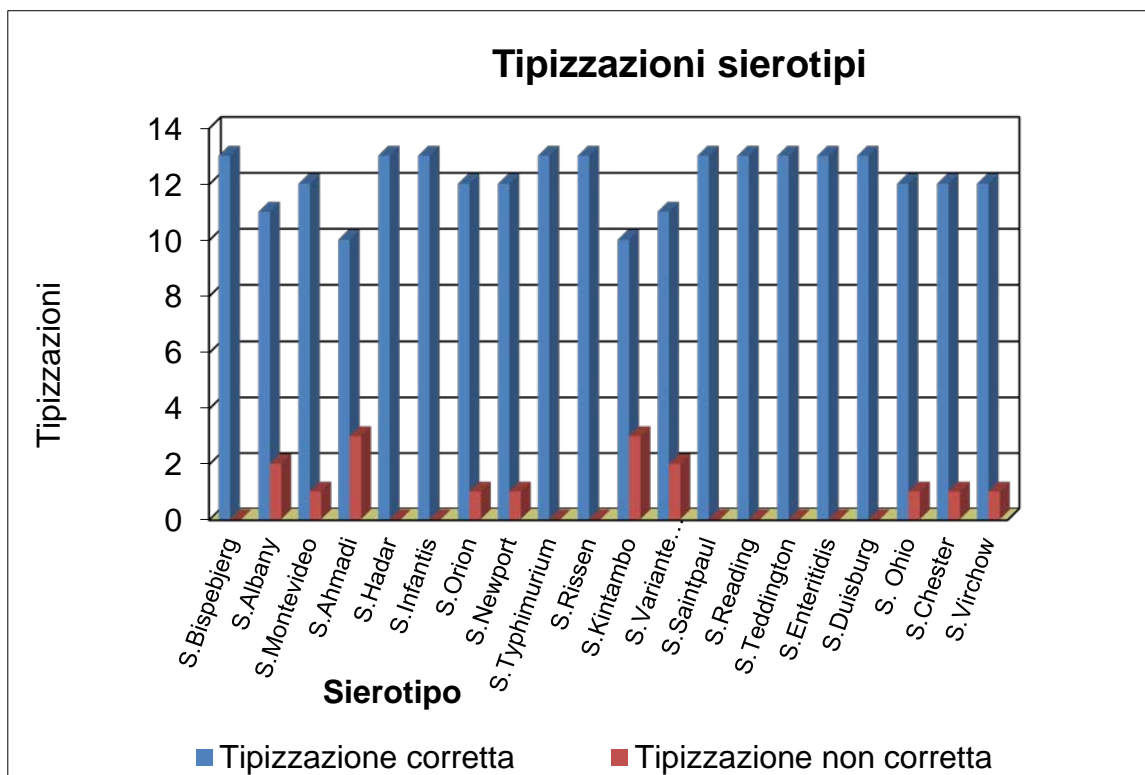


Grafico 6 - Risultati identificazione dei sierotipi

## 6. VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE

Per valutare il livello di “buona performance” di ciascun partecipante sono stati utilizzati i criteri adottati dal Centro di Referenza Nazionale per *Salmonella* (NRL-*Salmonella*) di Bilthoven NL, che organizza annualmente il circuito di sierotipizzazione per i centri di referenza nazionali.

Sono attribuiti punti di penalità a ciascuno dei ceppi non tipizzati correttamente, distinguendo i ceppi appartenenti ai cinque sierotipi rilevanti, (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, inclusa la variante monofasica di *S. Typhimurium*; *S. Hadar*, *S. Infantis*, *S. Virchow*) da quelli appartenenti a sierotipi diversi.

Nello specifico, sono state attribuite:

- 4 penalità per la tipizzazione non corretta di un ceppo appartenente ad un sierotipo rilevante o per l'assegnazione non corretta del nome di uno di questi cinque sierotipi ad un ceppo appartenente ad un sierotipo diverso;
- 1 penalità per la tipizzazione non corretta di un ceppo appartenente a sierotipi differenti.

Una “buona performance” è raggiunta se il laboratorio partecipante ottiene un numero di penalità inferiore a 4, nel caso in cui il circuito preveda l'analisi di almeno 20 ceppi.

Secondo i criteri, sopra descritti, sono riportati di seguito (tabella 7) i punti di penalità relativi ai singoli partecipanti.

Cod. Lab.	L366	L426	L449	L452	L 453	L 472	L 474	L 475	L539	L540	L582	L646	L 698
Penalità n.	1	1	1	3	0	0	0	0	3	3+4*	1	1	1

**Tab. 7** – Penalità per ciascun laboratorio partecipante [SA1]

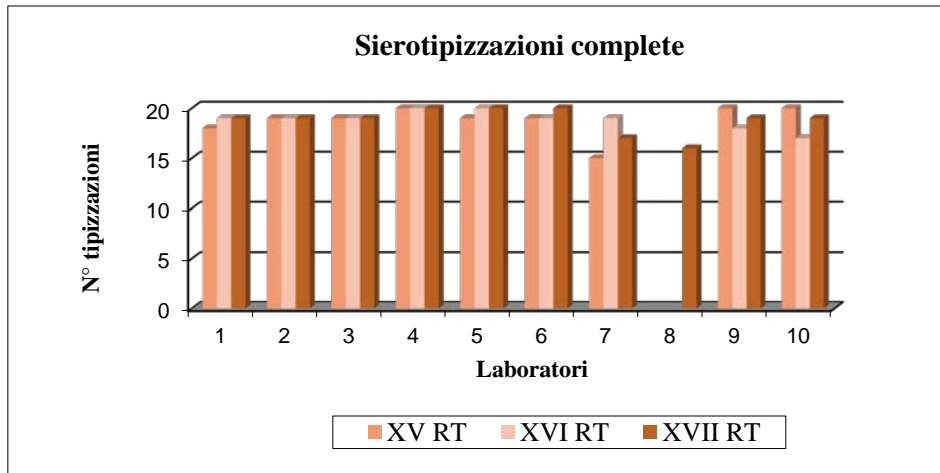
\* identificazione non corretta di un sierotipo rilevante

## 7. Analisi dei risultati dei circuiti interlaboratorio effettuati dal 2014 AL 2017

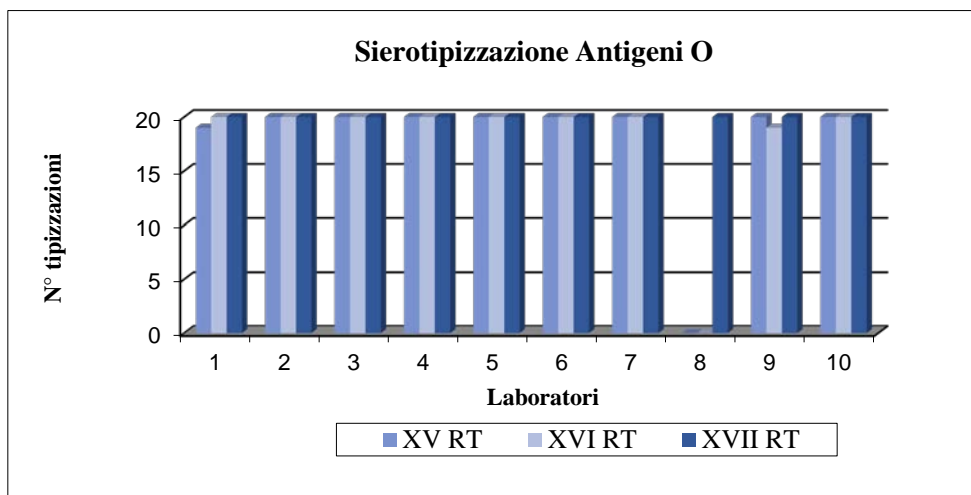
Al fine di osservare come si è evoluta nel tempo la capacità dei singoli laboratori partecipanti di sierotipizzare i ceppi di *Salmonella* spp. si sono confrontati i risultati ottenuti nell'ambito dei circuiti di sierotipizzazione effettuati del triennio 2015 - 2017 (XIV 2014; XV 2015 XVI 2016 XVII 2017).

I dati si riferiscono ai laboratori afferenti agli Istituti Zooprofilattici Sperimentali.

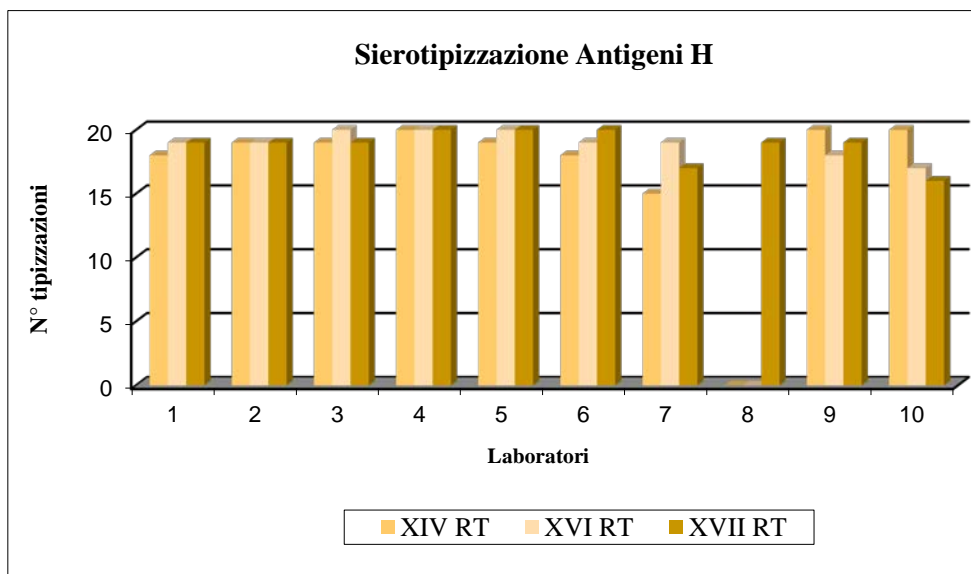
I grafici 7, 8 e 9 mostrano i risultati suddivisi rispettivamente per sierotipizzazioni complete corrette, sierotipizzazioni antigeni O e sierotipizzazione antigeni H.



**Grafico 7** - Identificazione corretta dei sierotipi per laboratorio e per circuito



**Grafico 8** - Identificazione corretta degli antigeni O per laboratorio e per circuito



**Grafico 9** - Identificazione corretta degli antigeni H per laboratorio e per circuito.

## 8. ELABORAZIONE STATISTICA

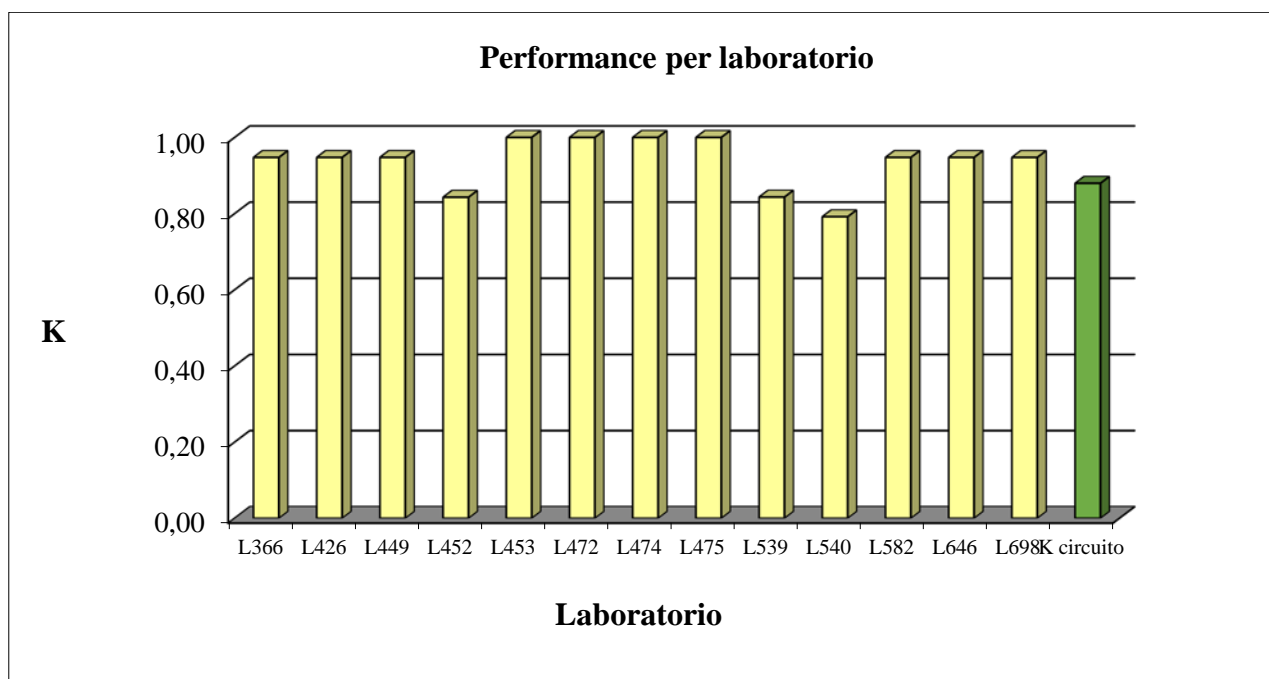
### 8.1 ANALISI DELLA CONCORDANZA

Per ogni laboratorio partecipante si è calcolata la statistica K di Cohen, che indica il grado d'accordo tra i risultati forniti dal singolo laboratorio partecipante e gli esiti dall'ente organizzatore del circuito. Si è calcolato inoltre il grado di accordo complessivo tra i laboratori partecipanti.

Il valore di K ottenuto per ciascun laboratorio, quello complessivo e l'interpretazione statistica con il relativo livello di significatività p-value è riportato in tabella 8.

	L366	L426	L449	L452	L453	L472	L474	L475	L539	L540	L582	L646	L698	K circuito
K	0,9475	0,9475	0,9475	0,8429	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,8433	0,7917	0,9475	0,9475	0,9475	0,8796
p-value	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

**Tab. 8** - Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante e complessivo del circuito[SA1]



**Grafico 10** - Concordanza dei risultati di ciascun laboratorio partecipante con l'esito atteso e concordanza complessiva tra i laboratori

K	Concordanza
$\leq 0$	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

**Tab. 9** - Scala di Landis & Koch

Confrontando i risultati ottenuti dai singoli laboratori con scala di Landis & Koch (tabella 9), che fornisce un'indicazione per interpretare il livello di concordanza di un laboratorio sulla base del valore K ottenuto, si può concludere che 12 laboratori partecipanti hanno ottenuto una concordanza tra 0.81-1.00 classificata come "ottima". Un solo laboratorio ha ottenuto un livello di concordanza inferiore (0.79).

Valutando i dati complessivi la concordanza dell'intero circuito è risultata pari a 0,8796 IC [(0.820 - 0.926)] che quindi è stata giudicata come "ottima".

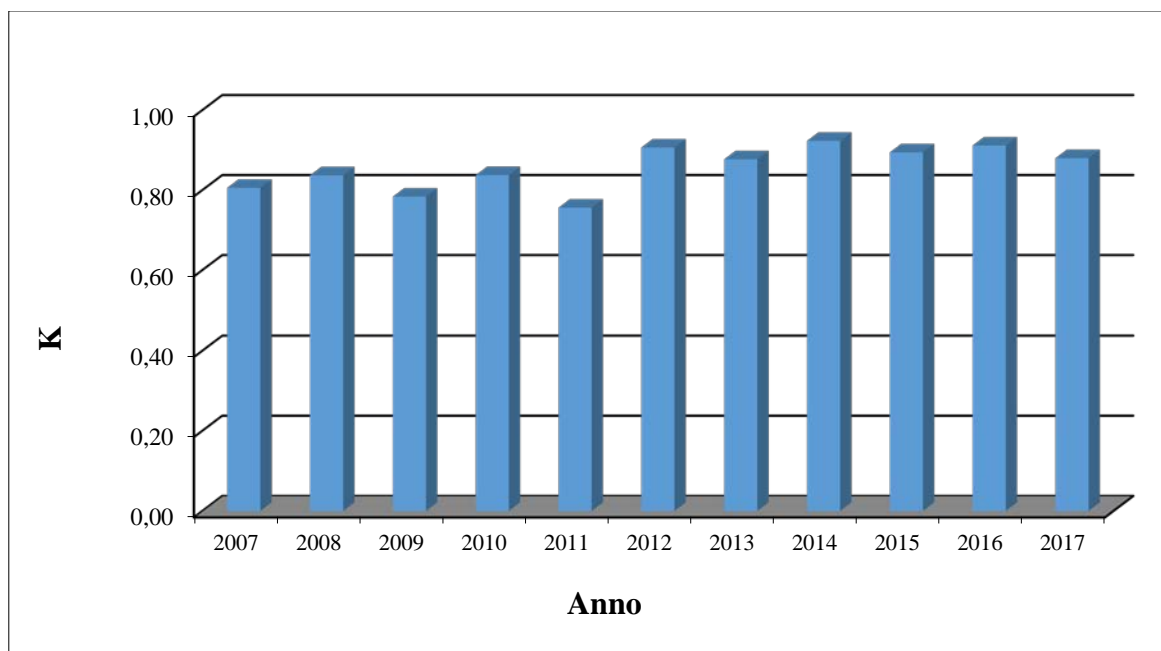


Grafico 11 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo

## 9. SEZIONE SA2 (CIRCUITO SIEROTIPIZZAZIONE "SHORT")

### 9.1 PARTECIPANTI

La sezione SA2 del Circuito di sierotipizzazione *Salmonella* spp., XVIII edizione 2017 prevedeva l'identificazione esclusiva dei sierotipi di *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica di *S. Typhimurium*.

Tale sezione è rivolta in particolare ai laboratori che, in accordo a quanto previsto dai Regolamenti Comunitari, devono provvedere ad escludere o confermare la presenza di tali sierotipi considerati rilevanti per la salute pubblica.

A tale sezione hanno partecipato 2 laboratori privati e 2 laboratorio afferenti agli Istituti Zooprofilattici, ciascuno dei quali è stato identificato con un codice numerico assegnato arbitrariamente.



## 9.2 MATERIALI E METODI

Ai partecipanti sono stati inviati 10 ceppi di *Salmonella* spp. della collezione del Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) da sottoporre a sierotipizzazione.

Nella tabella seguente sono riportati i sierotipi testati.

Ceppo N.	Sierotipo	Antigene O	Antigene H
1	S.Typhimurium	1,4, [5],12	i:1,2
2	S.Enteritidis	1.9,12	g,m: -
3	Variante Monofasica di S.Typhimurium	1,4[5] 12	i : -
4	S. Augustenborg	6,7,14	i:1,2
5	S. Enteritidis	1.9,12 -	g,m :-
6	Variante Monofasica di S.Typhimurium	1,4[5]12	i: -
7	S. Plymouth	9,46:	d:z <sub>6</sub>
8	S.Typhimurium	1,4, [5],12	i:1,2
9	Variante Monofasica di S.Typhimurium	1,4[5]:12	i: -
10	S.Enteritidis	1.9,12	g,m :-

**Tab. 10** - Formule antigeniche dei ceppi di *Salmonella* spp.inclusi nel circuito SA 2 (schema di Kauffmann-White 2007)

Ai partecipanti era richiesto di sierotipizzare i campioni di prova secondo le rispettive procedure in uso presso il laboratorio.

## 10. SPEDIZIONE DEL MATERIALE

I campioni prova del circuito sono stati confezionati per il trasporto di materiale biologico e inviati alla temperatura di refrigerazione.

I laboratori non hanno segnalato anomalie al momento del ricevimento dei campioni.

## 11. RISULTATI

La presente sezione del report si articola nelle seguenti parti:

- espressione dei risultati;
- risultati ottenuti dai singoli laboratori partecipanti;
- risultati ottenuti per ciascun ceppo testato;
- valutazione della performance;
- valutazione statistica delle “performance” dei singoli laboratori partecipanti.

### 11.1 ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il circuito SA2 prevedeva l'identificazione esclusiva dei sierotipi S. Enteritidis, S. Typhimurium e variante monofasica di S. Typhimurium.

Ai laboratori partecipanti è stato richiesto di esprimere i risultati secondo le indicazioni riportate nella seguente tabella.

Sierotipo	Antigeni somatici evidenziati	Antigeni flagellari evidenziati
Variante monofasica di S.Typhimurium	4,5	i : - :
S. Enteritidis	9	g,m : -
<i>Salmonella</i> spp. non S.E non S.T non STV; oppure Negativo	/	/
Salmonella Gruppo D non SE; oppure Negativo	/	/
S. Typhimurium	4,5	i : 1,2
Salmonella Gruppo B non ST non STV; oppure Negativo	/	/

**Tab. 11** - Espressione dei risultati [SA2] - (S.E: S. Enteritidis; S.T: S. Typhimurium; STV: Variante Monofasica di S. Typhimurium)

## 11.2 RISULTATI DEI SINGOLI LABORATORI PARTECIPANTI

Nella tabella 12 sono riportati i risultati della sierotipizzazione ripartiti per laboratorio partecipante.

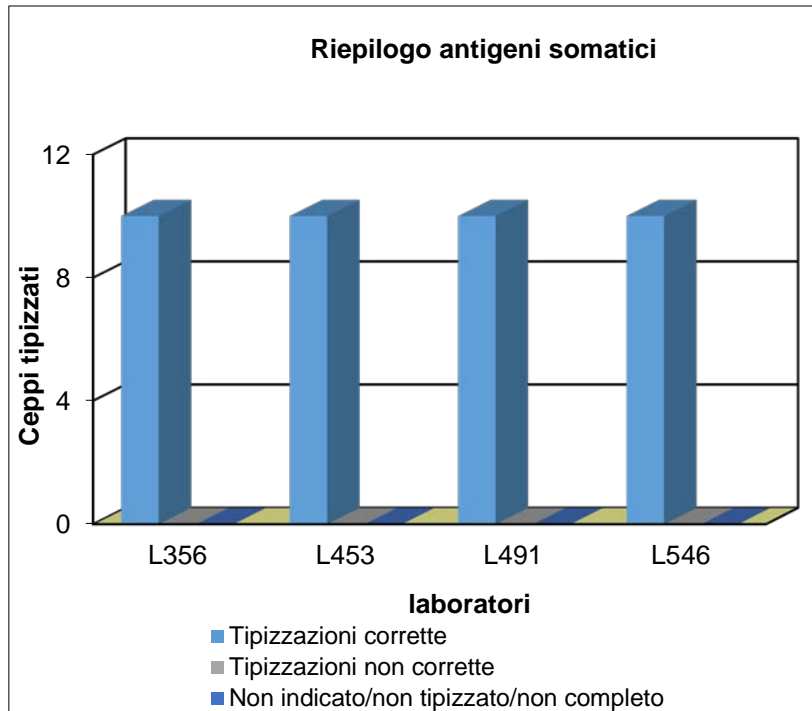
Due laboratori (L356-L546) hanno tipizzato correttamente 8 ceppi su 10, un laboratorio (L491) ha tipizzato correttamente 7 ceppi su 10 e un laboratorio L453 ha tipizzato correttamente tutti i ceppi.

Per quanto riguarda gli antigeni somatici, le identificazioni da parte di tutti i laboratori partecipanti sono risultate corrette (100%), mentre nella tipizzazione degli antigeni ciliari vi sono stati 7 errori (identificazione non corretta, 82,5%).

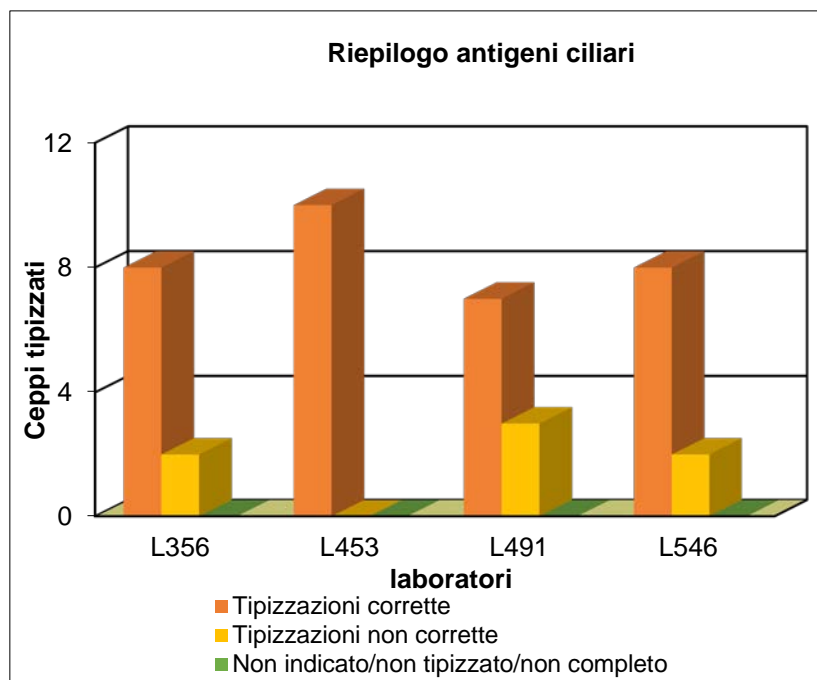
Codici lab	Antigeni somatici			Antigeni ciliari			Sierotipo		
	Tipizzazioni corrette	Tipizzazioni non corrette	Non indicato/non tipizzato/non completo	Tipizzazioni corrette	Tipizzazioni non corrette	Non indicato/non tipizzato/non completo	Tipizzazioni corrette	Tipizzazioni non corrette	Non indicato/non tipizzato/non completo
<b>L356</b>	10	0	0	8	2	0	8	2	0
<b>L453</b>	10	0	0	10	0	0	10	0	0
<b>L491</b>	10	0	0	7	3	0	7	3	0
<b>L546</b>	10	0	0	8	2	0	8	2	0

**Tab. 12** - Risultati della sierotipizzazione per laboratorio partecipante [SA2]

I grafici 12, 13, 14 riassumono i risultati ottenuti dai singoli laboratori per quanto riguarda rispettivamente la tipizzazione degli antigeni somatici, ciliari e l'identificazione dei sierotipi.



**Grafico 12** - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio



**Grafico 13** - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio

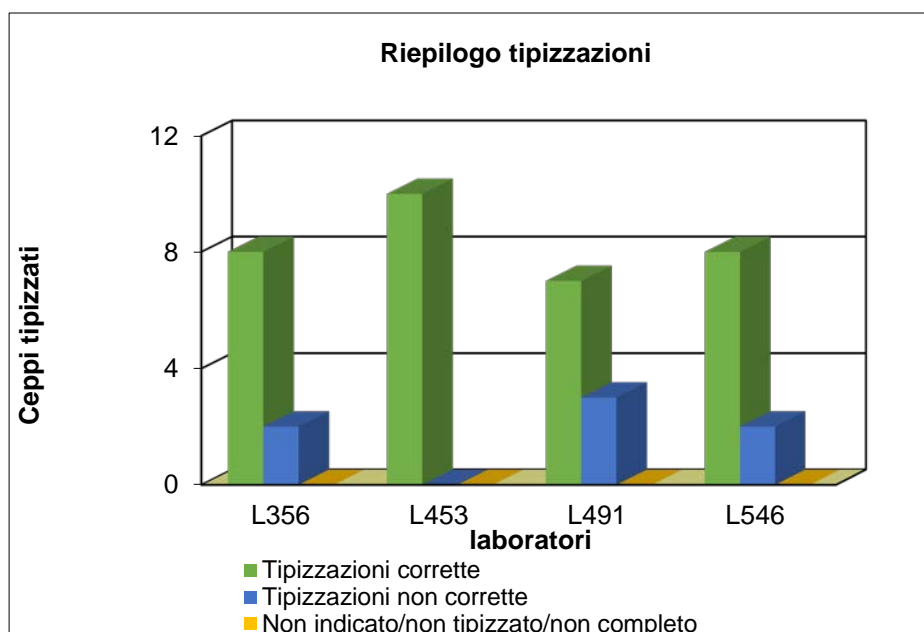


Grafico 14 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratorio

### 11.3 RISULTATI PER CEPPO TESTATO

I risultati della sierotipizzazione espressi per ceppo sono riportati in Tabella 13.

	somatico		ciliare		sierotipizzazione	
	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta
<b>S. Typhimurium</b>	4	0	4	0	4	0
<b>S. Enteritidis</b>	4	0	4	0	4	0
<b>Variante monofasica di S. Typhimurium</b>	4	0	3	1	3	1
<b>S. Augustenborg</b>	4	0	4	0	4	0
<b>S. Enteritidis</b>	4	0	4	0	4	0
<b>Variante monofasica di S. Typhimurium</b>	4	0	2	2	2	2
<b>S. Plymouth</b>	4	0	4	0	4	0
<b>S. Typhimurium</b>	4	0	3	1	3	1
<b>Variante monofasica di S. Typhimurium</b>	4	0	2	2	2	2
<b>S. Enteritidis</b>	4	0	3	1	3	1

Tab. 13 – Risultati sierotipizzazione espressi per ceppo.

Nella tabella 14 vengono riportati gli errori associati al sierotipo per il quale si sono verificati problemi d'identificazione.

N. ceppo	Sierotipo	Antigeni O	Antigeni H	Codice laboratorio
S3	Variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>	1,4[5]12	i:-	CRNS
	<u>S.</u> Typhimurium	1,4, [5],12	i:1,2	L491
S6	Variante monofasica di <i>S.Typhimurium</i>	1,4[5]12	i:-	CRNS
	<i>S. Typhimurium</i>	1,4, [5],12	i:1,2	L356 - L491
S8	<i>S. Typhimurium</i>	1,4, [5],12	i:1,2	CRS
	Variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i>	1,4, [5],12	i:-	L 546
S9	Variante monofasica di <i>S.Typhimurium</i>	1,4[5]12	i:-	CRNS
	<i>S.Typhimurium</i>	1,4, [5],12	i:1,2	L356 - L491
S10	<u>S.Enteritidis</u>	9	g,m:-	CRS
S10	<u>negativo</u>			L546

Tab. 14 - Ceppi che hanno presentato problemi di sierotipizzazione [SA2]

I grafici 15, 16, 17 riassumono i risultati della tipizzazione degli antigeni somatici, ciliari e l'identificazione dei singoli ceppi.

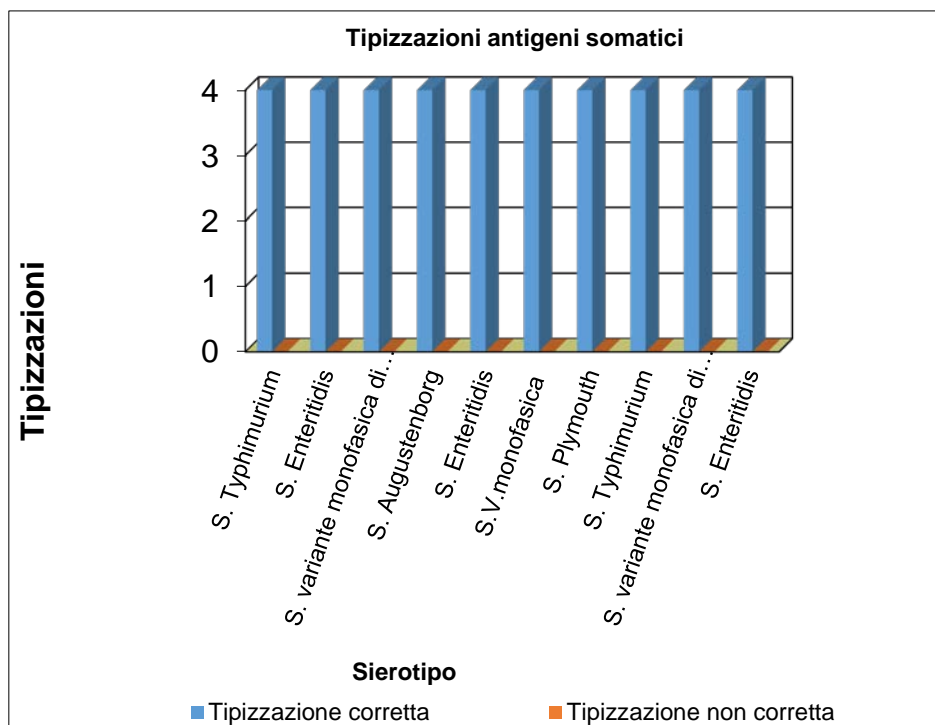


Grafico 15 - Risultati della tipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo

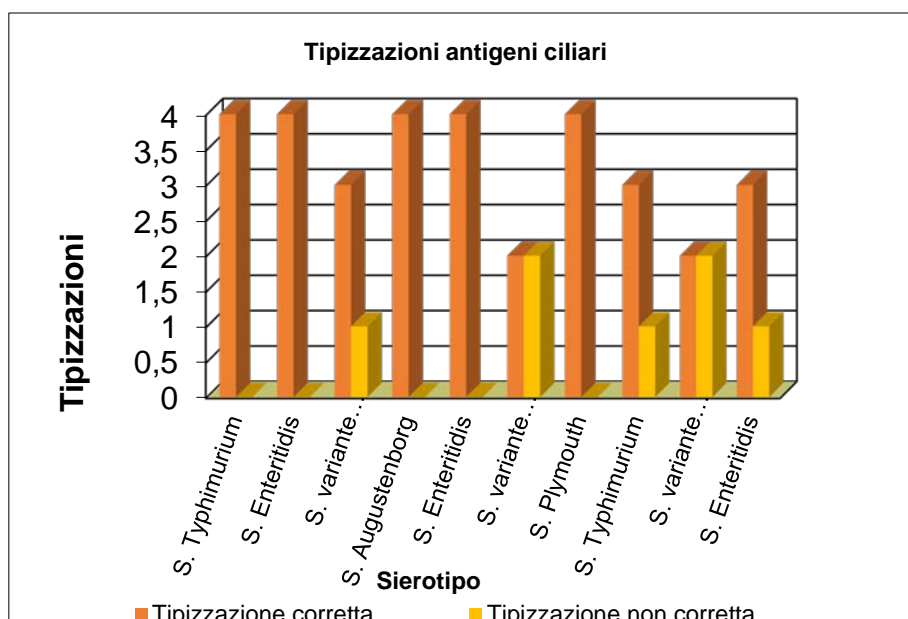


Grafico 16 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo

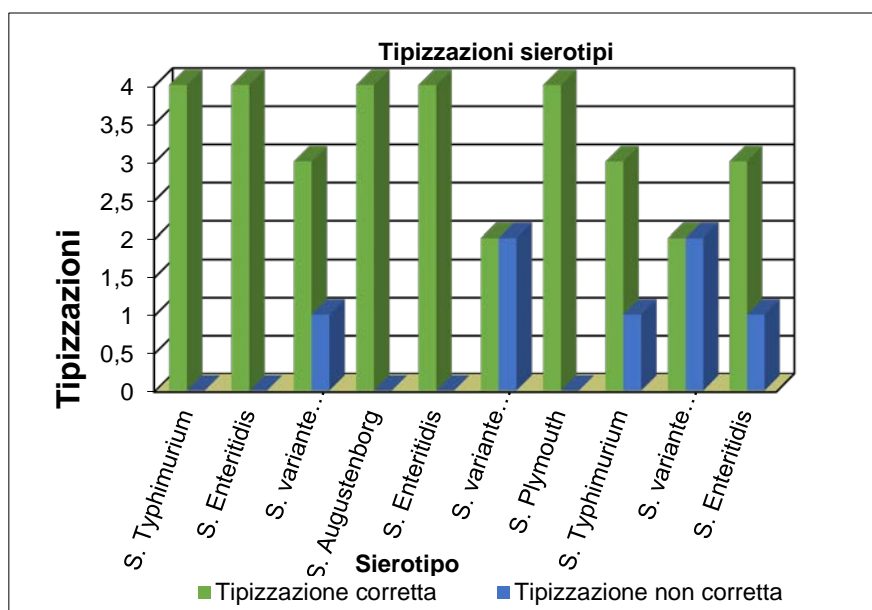


Grafico 17 - Risultati identificazione dei sierotipi

## 12. VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE

Il circuito SA2 prevedeva l'identificazione esclusiva di ceppi di *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica di *S. Typhimurium*.

Per una non corretta identificazione di uno di questi sierotipi sono stati attribuiti 2 punti di penalità. Per l'identificazione errata di un ceppo di *S. Typhimurium* come variante monofasica di *S. Typhimurium* è stato attribuito 1 punto di penalità.

Nella valutazione complessiva, nel caso in cui il circuito preveda l'analisi di almeno 10 ceppi, fino a 3 punti di penalità la performance è considerata soddisfacente, oltre 3 punti di penalità la performance è ritenuta non soddisfacente.

Secondo i criteri sopra descritti in Tabella 15 sono riportati i punti di penalità relativi ai singoli partecipanti.

Cod. Lab.	L356	L491	L453	L546
Penalità n.	2	3	0	1+2

Tab. 15 – Penalità per ciascun laboratorio partecipante [SA2]

### 13. ANALISI DEI RISULTATI DEI CIRCUITI INTERLABORATORIO (SA2) EFFETTUATI DAL 2014 AL 2017

I grafici 18, 19 e 20 mostrano i risultati suddivisi rispettivamente per sierotipizzazioni complete corrette, sierotipizzazioni antigeni O e sierotipizzazione antigeni H.

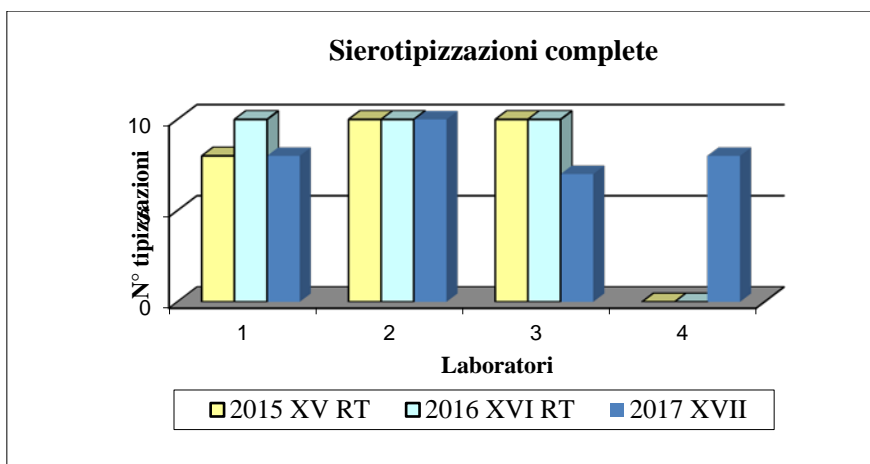


Grafico 18 – Sierotipizzazioni complete

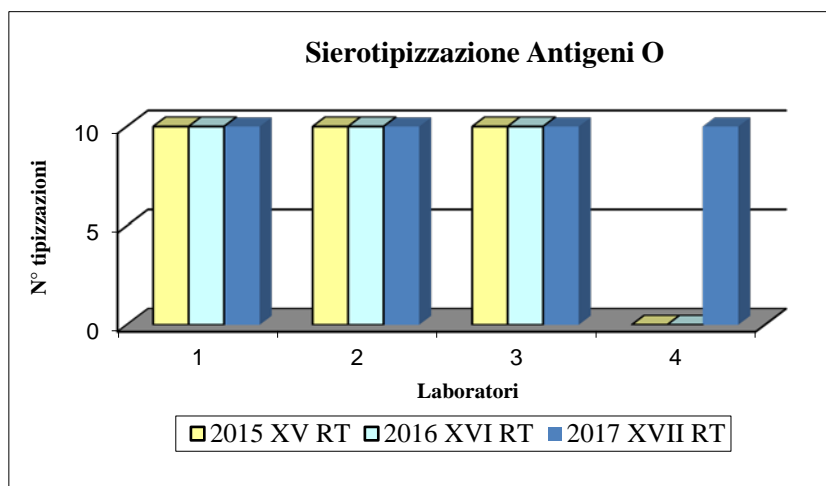


Grafico 19 - Sierotipizzazione Antigeni O

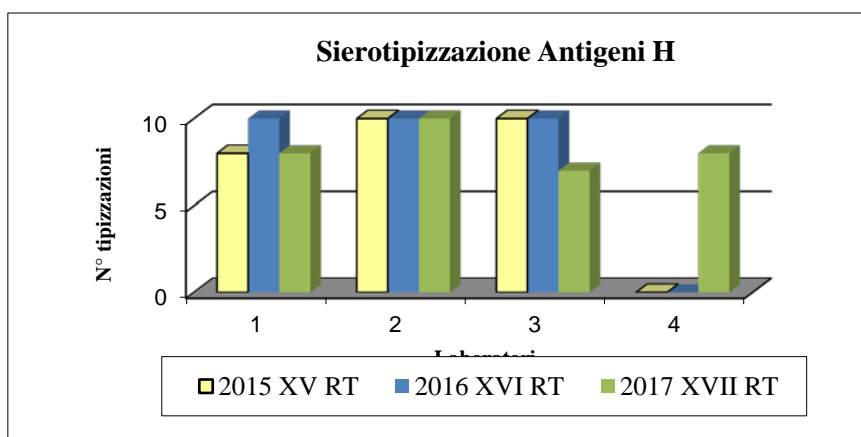


Grafico 20 - Sierotipizzazione Antigeni H

#### 14. 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 dall'ente organizzatore del circuito.

Si è calcolato inoltre il grado di accordo complessivo tra i laboratori partecipanti.

Il valore di K ottenuto per ciascun laboratorio, complessivo e l'interpretazione della statistica con il relativo livello di significatività p-value è riportato in tabella 15.

	L356	L453	L491	L546	K circuito
K	0,7436	1,0000	0,6203	0,7436	0,6338
p-value	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Tab. 16 - Valore di concordanza k e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante [SA2]

Confrontando i risultati ottenuti dai singoli laboratori con scala di Landis & Koch (tabella 17), che fornisce un'indicazione per interpretare la concordanza di un laboratorio sulla base del valore K ottenuto, si può concludere che un laboratorio ha ottenuto un livello di concordanza tra 0.81-1.000, mentre i rimanenti tre laboratori una concordanza tra 0,6 e 0,8 che viene giudicata come adeguata.

Valutando i dati complessivi la concordanza dell'intero circuito è risultata pari a 0,6338 IC [0,398; 0,929] quindi il livello di performance generale è stato giudicato soddisfacente.

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

Tab. 17 - Scala di Landis &amp; Koch [SA2]



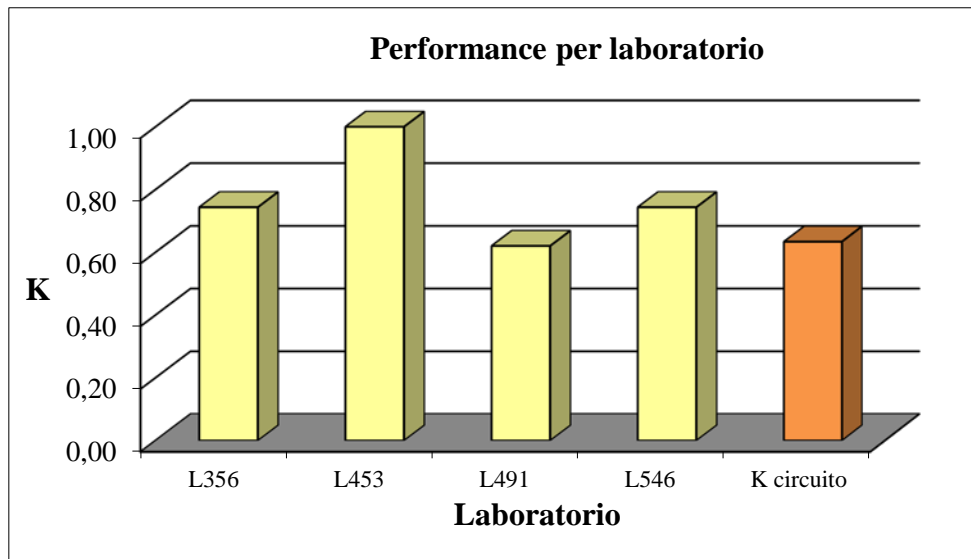


Grafico 21 - Performance per laboratorio

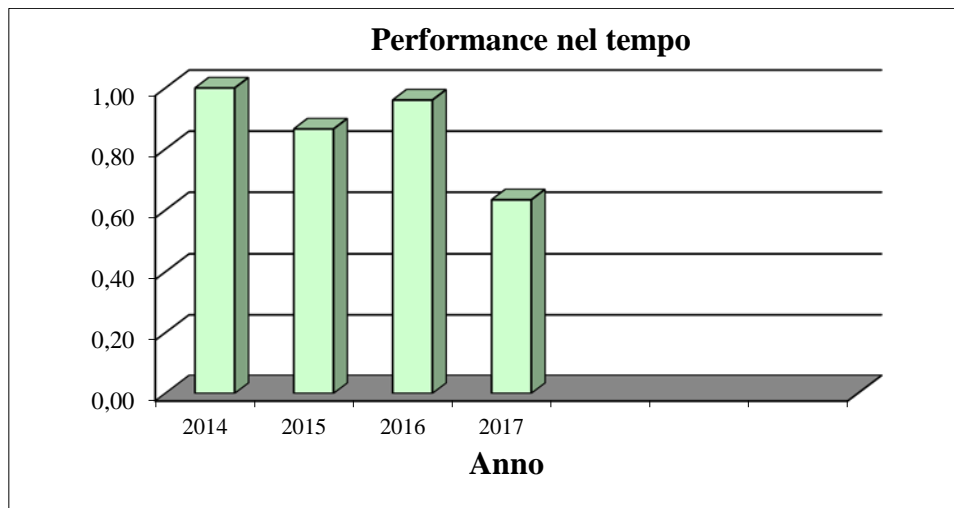


Grafico 22 - Performance nel tempo

## 15. CONCLUSIONI

Relativamente al Circuito SA1, sulla base delle informazioni raccolte dai Test Report, per quanto riguarda il metodo applicato principalmente, si è utilizzata la procedura di tipizzazione sierologica basata sull'agglutinazione rapida e in alcuni casi è stata eseguito anche il metodo in PCR.

La maggior parte dei laboratori impiega solo sieri Statens Serum Institut in alcuni casi sia sieri Statens Serum Institut, Difco, sieri Becton Dickinson, Denka Seiken Prolab e Biorad.

In base ai criteri di valutazione delle performance dei partecipanti adottati per la valutazione del circuito e in linea con quanto proposto a livello europeo dal Centro di Referenza Comunitario, il numero di penalità relativo ai partecipanti è risultato variabile tra 1 (6 laboratori) e 7 (1 laboratorio). Quattro laboratori non eseguito correttamente l'intero circuito.

Complessivamente la performance ottenuta dai laboratori partecipanti è da considerarsi soddisfacente, fatta eccezione per un singolo laboratorio, che non hanno identificato in modo corretto un ceppo appartenente ad un sierotipo rilevante e tre ceppi appartenenti ad altri sierotipi. Per questo laboratorio si prevede di pianificare un circuito follow-up.

La componente somatica è stata identificata correttamente per tutti i ceppi oggetto di studio, mentre gli errori erano dovuti ad interpretazione non corretta degli antigeni ciliari.

Anche nell'edizione precedente del circuito sono stati ottenuti risultati del tutto simili.

Valutando la concordanza complessiva del Circuito SA1 (secondo il  $k$  di Cohen) la performance dei laboratori è risultata in linea con le edizioni precedenti.

Anche per il circuito SA2 è stato seguito principalmente il metodo sierologico, con sieri Statens Serum Institut e un laboratorio ha applicato la procedura molecolare.

Dai risultati ottenuti il numero delle penalità ottenuto è tra 2 (uno laboratorio) e 3 (due laboratorio), un laboratorio invece ha identificato correttamente tutti i ceppi appartenenti al circuito. Fatta eccezione per un singolo ceppo appartenente ad un sierotipo rilevante, che un laboratorio non ha correttamente identificato, tutti gli altri errori evidenziati nell'ambito del circuito SA2 sono da attribuire ad una non corretta differenziazione di isolati di *S. Typhimurium* ed isolati di variante monofasica di *S. Typhimurium*.

Dal momento che i metodi utilizzati da alcuni laboratori partecipanti non sono in grado di differenziare questi due sierotipi e considerando che la rilevanza sanitaria e le implicazioni legislative sono del tutto sovrapponibili per entrambi i sierotipi, questa non corretta classificazione è stata considerata nell'ambito della valutazione del circuito, ma ritenuta di rilevanza minore rispetto alla non identificazione di un sierotipo rilevante.

Nota

**I laboratori sono resi anonimi e identificati solo tramite codici alfa-numeric (Informativa ex art. 13 del D.Lgs. n. 196/30.6.2003 e s.m. e i. “Codice in materia di protezione dei dati personali”):**

- i dati acquisiti sono utilizzati dall’Istituto per il Circuito Interlaboratorio AQUA e la gestione delle attività correlate;
- le attività comportanti il trattamento dei dati conferiti sono svolte per conseguire finalità a carattere istituzionale;
- il trattamento dei dati è effettuato sia con strumenti informatici che cartacei da parte dei servizi dell’Istituto;
- il titolare del trattamento è l’Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie in persona del Direttore Generale con sede in Legnaro (PD) – Viale dell’Università, 10 e il Responsabile della Struttura Complessa SCS1– Analisi del rischio e sorveglianza in sanità pubblica è la dr.ssa Antonia Ricci.
- **l’interessato potrà esercitare i diritti di cui all’art. 7 del D.Lgs. n. 196/2003 rivolgendosi all’Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie con sede in Legnaro (PD) – Viale dell’Università, 10).**

Riferimenti

Responsabile circuito interlaboratorio Aqua isolamento-identificazione e tipizzazione salmonella

Dott.ssa Antonia Ricci                      Tel.0498084296                      e-mail aricci@izsvenezie.it

Responsabile circuito interlaboratorio sierotipizzazione di *Salmonella* spp

Dott.ssa Lisa Barco                      Tel. 049 8084305                      e-mail lbarco@izsvenezie.it

Responsabile tecnico

Dott.ssa Cristina Saccardin                      Tel. 049 8084283                      e-mail csaccardin@izsvenezie.it

Responsabile statistico

Dott.ssa Marzia Mancin Tel. 049 8084252                      e-mail mmancin@izsvenezie.it

Il presente report è a cura di

Dott.ssa Lisa Barco, dott.ssa Cristina Saccardin, dott.ssa Antonia Ricci

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie  
Analisi del Rischio e Sorveglianza  
V.le dell’Università 10-35020 LEGNARO (PD)  
www.izsvenezie.it