

Anno 2018

**Risultati IV Circuito Interlaboratorio Nazionale
Isolamento *Salmonella* spp. da campioni di
origine animale, produzione primaria -
LABORATORI PRIVATI**

SOMMARIO

1. Introduzione	2
2. Laboratori Partecipanti.....	2
3. Materiali e metodi.....	3
3.1 Materiale di riferimento	3
3.2 Matrice	4
3.3 Spedizione del materiale	4
3.4 Documenti trasmessi ai laboratori partecipanti.....	4
4. Valutazione della performance e criteri di accettabilità	5
5. Risultati	5
5.1 Dati tecnici.....	5
5.2 Sintesi dei risultati	6
5.3 Valutazione della performance dei laboratori partecipanti	6
6. Conclusioni	7
Nota	8
Riferimenti	8
Allegati	9
ALLEGATO 1 – LISTA LABORATORI PARTECIPANTI (CODICE AQUAWEB) E METODICA UTILIZZATA NELL’AMBITO DEL CIRCUITO	9
ALLEGATO 2 - PROTOCOLLO.....	9
ALLEGATO 3 – REPORT PARZIALE	9

ELENCO TABELLE

TAB. 1 - Calendario attività.....	3
TAB. 2 - Allestimento campioni di prova.	5

1. INTRODUZIONE

Uno dei principali compiti dei Centri di Referenza Comunitari e Nazionali, come stabilito anche dal Regolamento UE 2017/625 (che abroga il Regolamento CE 882/2004), è quello di organizzare circuiti interlaboratorio al fine di valutare le performance analitiche dei laboratori partecipanti. 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* spp. in determinate specie animali destinate alla produzione di alimenti.

Il circuito di seguito descritto è organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) allo scopo di valutare le capacità dei laboratori privati partecipanti di identificare *Salmonella* spp. in campioni di origine animale della produzione primaria.

Questo circuito di isolamento di *Salmonella* spp. da campioni di origine animale rappresenta il quarto organizzato dal CRNS esclusivamente dedicato ai laboratori privati, a seguito di quanto previsto dall'allegato 6 del " Piano Nazionale di Controllo delle Salmonellosi negli Avicoli 2016-2018" (PNCS) avente come oggetto la "procedura operativa per l'identificazione dei laboratori privati che intendono eseguire l'analisi dei campioni prelevati dagli OSA".

2. LABORATORI PARTECIPANTI

Sulla base della programmazione delle attività del CRNS (<http://www.izsvenezie.it/circuito-aqua-nuovi-schemi-salmonella/>) il numero massimo di laboratori ammissibili al circuito Interlaboratorio Isolamento e Identificazione di *Salmonella* spp. (denominato SA3) è posto pari a 30. Al presente circuito hanno preso parte 31 laboratori privati. Il gruppo di lavoro, cui partecipano rappresentanti del Ministero della Salute, ACCREDIA, COVEPI e CRNS ha deciso di ammettere in deroga, in considerazione delle circostanze eccezionali che si sono verificate, la partecipazione di un laboratorio soprannumerario.

Ciascuno laboratorio è stato identificato con un codice numerico assegnato arbitrariamente (in allegato 1 viene fornito per ciascun laboratorio partecipante il codice rilasciato dal gestionale AQUAWEB e la/e metodica/he utilizzata/e per testare i campioni nell'ambito del presente circuito).

Le attività pianificate nell'ambito del circuito sono state svolte secondo la tempistica definita nel calendario, anticipatamente inviato ai partecipanti (vedi tabella 1).

Data	Attività
Dal 03/04/2018	Pubblicazione pianificazione e protocollo delle modalità operative. <i>Si ricorda che ciascun laboratorio dovrà procedere a procurarsi il materiale necessario, come indicato nel protocollo.</i>
Dal 30/04/2018 al 05/05/2018	Spedizione del materiale ai laboratori coinvolti tramite corriere. Immediatamente dopo l'arrivo del materiale ciascun laboratorio deve: - Verificare la presenza ed integrità di tutto il materiale previsto - Conservare il materiale come segue: feci tra +2°C e +8°C ; vials con i dischetti -20°C ± 5°C. <i>Nel caso in cui il laboratorio non riceva il materiale nel periodo indicato, o vi siano anomalie del materiale consegnato, si prega di contattare tempestivamente il CNRS.</i>
Dal 07/05/18 al 12/05/2018	Esecuzione del circuito.
Entro 04/06/18	Inserimento dei risultati nel Test Report presente in AQUAWEB <i>Non sarà possibile inserire risultati oltre la data indicata, inoltre risultati inviati con altre modalità non verranno presi in considerazione</i>
Entro 18/06/18	Pubblicazione in AQUAWEB del report parziale con indicazione del risultato atteso

Tab. 1 - Calendario attività

3. MATERIALI E METODI

La metodica di riferimento da impiegarsi nel presente circuito di isolamento di *Salmonella* spp. è quella riportata nella UNI EN ISO 6579-1: 2017, o altro metodo alternativo utilizzato presso il laboratorio purché validato in accordo alla EN/ISO 16140.

3.1 MATERIALE DI RIFERIMENTO

Per l'esecuzione del circuito è stato utilizzato materiale di riferimento certificato (Vitroids™), commercializzato dalla ditta SIGMA-ALDRICH S.r.l. Nello specifico sono stati impiegati dischetti "bianchi" (non contenenti alcun microrganismo) e dischetti contenenti 85 (range atteso 39-190) ufc (valore corrispondente alla media geometrica) di *Salmonella* Typhimurium (STM).

Una volta ricevuto il materiale di riferimento il CRNS ha provveduto a conservarlo a -20 ± 5 °C, temperatura che permette di garantirne la stabilità per lunghissimi periodi. In ogni caso il produttore garantisce la stabilità del prodotto anche in caso di esposizione a temperatura ambiente per brevi periodi.

Il materiale di riferimento destinato a ciascun laboratorio partecipante è stato preparato siglando ciascuna provetta (contenente un singolo dischetto) con il codice identificativo di ogni campione di prova; in particolare, sono state siglate da A1 ad A7 le provette contenenti i dischetti da utilizzare per allestire i campioni (contenenti la matrice), con codici C1 e C2 le provette con i dischetti da impiegare per allestire i controlli (in assenza di matrice).

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

- 5 dischetti contenenti STM, di cui 4 da aggiungere ai campioni di feci di origine animale negativi per *Salmonella* spp. ed uno per allestire il controllo denominato C1 (in assenza di matrice);
- 4 dischetti “bianchi” non contenenti *Salmonella* spp. (3 da aggiungere ai campioni di feci di origine animale negativi per *Salmonella* spp. ed uno da analizzare in assenza di feci e corrispondente al controllo C2).

3.2 MATRICE

Ai laboratori partecipanti sono state inviate aliquote di circa 220 g di feci di pollo negative per *Salmonella* spp.

La negatività della matrice è stata verificata su 10 aliquote ottenute dal lotto originale della matrice dopo averla opportunamente omogenata.

Da ciascuna aliquota sono stati prelevati 25 g di campione e si è proceduto alla ricerca di *Salmonella* spp. secondo la metodica definita nel documento UNI EN ISO 6579-1:2017.

Le analisi effettuate hanno confermato l'assenza di *Salmonella* spp in tutte aliquote testate.

Inoltre, sul materiale fecale, al momento dell'arrivo presso il CRNS, sono stati eseguiti due controlli, relativi alla quantificazione della Carica Mesofila Totale (procedura UNI EN ISO 4833-2_2013) e degli Enterobatteri (procedura UNI EN ISO 21528-2_2017).

I risultati delle analisi sono i seguenti: 140.000.000 ufc/g (carica mesofila totale) e 20.000 ufc/g (*Enterobacteriaceae*).

Le aliquote di feci destinate ai singoli partecipanti sono state conservate in sacchetti sigillati, mantenuti a temperatura di congelamento ($\leq 18^{\circ}\text{C}$) fino al momento della spedizione.

3.3 SPEDIZIONE DEL MATERIALE

Il materiale per l'esecuzione del circuito, di cui ai punti precedenti, è stato inviato tramite una ditta specializzata per il trasporto di materiale biologico, richiedendo il mantenimento della temperatura a -20°C .

I laboratori partecipanti non hanno segnalato anomalie al momento della ricezione del materiale.

3.4 DOCUMENTI TRASMESSI AI LABORATORI PARTECIPANTI

A ciascun laboratorio partecipante sono stati resi disponibili nel gestionale AQUAWEB, anticipatamente rispetto all'esecuzione delle analisi, la pianificazione e il protocollo operativo (2), contenente indicazioni anche sulle modalità di trasmissione dei risultati. Il documento relativo alla SCHEDA DI SICUREZZA dei campioni prova, è stato reso disponibile nel sito dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (<http://www.izsvenezie.it/servizi/altri-servizi/circuito-interlaboratorio-aqua/>).

In sintesi il protocollo prevedeva che ciascun laboratorio testasse 11 campioni di prova (7 campioni siglati da A1 ad A7 e 4 controlli siglati da C1 a C4), allestiti in accordo a quanto riportato in tabella 2.

Campione di prova	APTS 225 ml	DISCHETTO	FECI 25g
A1	SI	SI	SI
A2	SI	SI	SI
A3	SI	SI	SI
A4	SI	SI	SI
A5	SI	SI	SI
A6	SI	SI	SI
A7	SI	SI	SI
C1	SI	SI	NO
C2	SI	SI	NO
C3	SI	NO	SI
C4	SI	NO	NO

Tab. 2 - Allestimento campioni di prova.

4. VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE E CRITERI DI ACCETTABILITÀ

I risultati trasmessi dai laboratori partecipanti, ovvero l'indicazione di presenza/assenza di *Salmonella* spp. nei controlli (da C1 a C4) e nei campioni (da A1 ad A7) sono stati confrontati con il risultato atteso, pubblicato in data 13/06/2018 (Allegato 3 - Report parziale).

Sono stati definiti dei criteri di accettabilità per identificare i laboratori con performance non soddisfacente.

Si riportano di seguito sinteticamente i criteri di accettabilità:

- controllo in assenza di matrice "C1-C2-C4" : accettabile 0 errori;
- campione negativo in presenza di matrice "A4, A5, A7":accettabile 1 errore;
- campione positivo in presenza di matrice "A1, A2, A3, A6" : accettabile 1 errore.

5. RISULTATI

5.1 DATI TECNICI

I dati tecnici sono stati riportati da tutti i 31 laboratori che hanno inviato il test report.

Per quanto riguarda il metodo utilizzato:

- due laboratori hanno utilizzato esclusivamente un metodo alternativo (ed in particolare il laboratorio L000716 ha utilizzato il metodo certificato AFNOR BIO 12/32-10/11 e il laboratorio L000754 che ha utilizzato il metodo certificato AFNOR BRD 07/06-07/04);
- venticinque laboratori hanno utilizzato esclusivamente il metodo descritto nella UNI EN ISO 6579-1:2017;
- quattro laboratori hanno dichiarato di avere utilizzato in parallelo un metodo alternativo ed il metodo di cui alla UNI EN ISO 6579-1:2017.

In allegato 1 si fornisce una tabella sintetica dei metodi utilizzati da ciascun laboratorio partecipante.

Tutti i laboratori hanno rapidamente posto il materiale alla temperatura di conservazione indicata, tranne i laboratori L000578 e L000587 che hanno dichiarato un tempo rispettivamente pari a tre ore e due ore tra l'arrivo del materiale e lo stoccaggio.

Ai laboratori era stato chiesto di fornire dettagli in particolare per quanto riguarda tempo e temperatura relative alla fase di pre-arricchimento in APTS (BPW).

Dai dati inviati emerge che quattro laboratori, ovvero L000592, L000593, L000672 e L000757 hanno eseguito il test la settimana successiva rispetto a quella indicata e un laboratorio (L000620) due settimane dopo quella indicata.

Per quanto riguarda la temperatura di incubazione dell'APTS i laboratori che hanno utilizzato un metodo alternativo in parallelo hanno dichiarato di avere utilizzato le medesime modalità di pre-arricchimento previste dal metodo UNI ENI ISO 6579-1:2017; i laboratori che hanno utilizzato esclusivamente il metodo alternativo (L000716 e L000754) hanno adottato le modalità previste dal metodo alternativo. Il laboratorio L000584 non ha fornito dettagli rispetto al metodo di pre-arricchimento utilizzato per quanto riguarda il metodo alternativo.

Per quanto riguarda i dati di tempo e temperatura relativi al pre-arricchimento con APTS si rileva quanto segue:

- la temperatura è sempre stata all'interno del range indicato dalla procedura (34- 38°C);
- per quanto riguarda il tempo di incubazione: 8 laboratori (L000479; L000502; L000593; L000612; L000620; L000716; L000728; L000731) hanno indicato tempi di incubazione superiori al limite massimo previsto dal metodo di riferimento (18+/-2 ore) ovvero superiori alle 20 ore.

Si segnala inoltre che il laboratorio L000603 ha dichiarato criticità in merito al mantenimento della temperatura dei termostati per problemi relativi alla corrente elettrica.

5.2 SINTESI DEI RISULTATI

Controlli da C1 a C4

Tutti i laboratori hanno identificato correttamente i controlli da C1 a C4.

Campioni da A1 ad A7

Un laboratorio (L000672) non ha identificato la presenza di *Salmonella* spp. in un campione su 4 (A6). Tale risultato è considerato comunque accettabile.

Tutti i laboratori hanno segnalato l'assenza di *Salmonella* spp. nei tre campioni addizionati con dischetti "bianchi".

I laboratori che hanno utilizzato in parallelo metodo alternativo e metodo ISO hanno dichiarato di avere ottenuto i medesimi risultati con i due metodi.

5.3 VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE DEI LABORATORI PARTECIPANTI

Tutti i 31 laboratori privati partecipanti hanno soddisfatto i criteri di accettabilità della performance.

6. CONCLUSIONI

I laboratori privati partecipanti a questa edizione del circuito hanno soddisfatto i criteri di accettabilità stabiliti; non si ritiene quindi necessario procedere con alcun follow-up.

L'esito di questo circuito con il dettaglio relativo ai laboratori partecipanti verrà inviato dal CRNS al Ministero della Salute, ad ACCREDIA e al COVEPI al fine dell'aggiornamento dell'elenco dei laboratori di cui all'allegato 6 del PNCS.

Anche se i laboratori hanno dimostrato una elevata performance si ritiene di fornire le seguenti raccomandazioni:

- rispettare la data di esecuzione del test prevista da calendario a garanzia della equiparabilità delle caratteristiche del materiale di partenza;
- attenersi a quanto previsto dalle procedure utilizzate ed in particolare porre attenzione alla fase di pre-aricchimento.

Infine si ricorda ai laboratori di provvedere rapidamente ad aggiornare i dati registrati nel gestionale AQUAWEB in caso di modifiche degli stessi e di provvedere ad acquisire le informazioni utili al mantenimento dei requisiti per accedere alla lista dei laboratori autorizzati ad eseguire analisi nell'ambito del PNCS consultando le pagine del sito dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dedicate al Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi. Le richieste di chiarimenti relative al circuito SA3 possono essere inviate a circuitisalmisolamento@izsvenezie.it all'attenzione della dott.ssa Cibirica Veronica.

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 dott.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 isolamento-identificazione SA3

Dott.ssa Veronica Cibir Tel. 049 8084163 e-mail vcibir@izsvenezie.it

Responsabile tecnico Circuito interlaboratorio isolamento-identificazione SA3

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

Responsabile del Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi

Dott.ssa Antonia Ricci

Il presente report è a cura di

Veronica Cibir, Cristina Saccardin, Paola Pestelli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

SCS1 Analisi del Rischio e Sorveglianza in Sanità Pubblica

V.le dell'Università 10 - 35020 LEGNARO (PD)

<http://www.izsvenezie.it>

ALLEGATI

ALLEGATO 1 - LISTA LABORATORI PARTECIPANTI (CODICE AQUAWEB) E
METODICA UTILIZZATA NELL'AMBITO DEL CIRCUITO

ALLEGATO 2 - PROTOCOLLO

ALLEGATO 3 - REPORT PARZIALE

ALLEGATO 1 – LISTA LABORATORI PARTECIPANTI (CODICE AQUAWEB) E METODICA UTILIZZATA
NELL'AMBITO DEL CIRCUITO

CODICE LABORATORIO AQUAWEB	METODO UNI EN ISO 6579-1:2017	METODO ALTERNATIVO	MODALITA' PRE- ARRICCHIMENTO CAMPIONI
L000324	X	NO	
L000346	X	NO	
L000356	X	NO	
L000479	X	NO	
L000491	X	PO 31 Rev.9:2018	STESSE MODALITA' METODO ISO
L000502	X	NO	
L000516	X	AFNOR BRD 07/06-07/04	STESSE MODALITA' METODO ISO
L000578	X	NO	
L000584	X	AFNOR ABI 29/02-09/10	NON VALUTABILE
L000587	X	NO	
L000592	X	NO	
L000593	X	NO	
L000599	X	NO	
L000603	X	NO	
L000605	X	NO	
L000612	X	AFNOR BRD 07/06-07/04	STESSE MODALITA' METODO ISO
L000613	X	NO	
L000620	X	NO	
L000627	X	NO	
L000672	X	NO	
L000716	NO	AFNOR BIO 12/32-10/11	METODO DIVERSO DA ISO, FORNITI DETTAGLI
L000728	X	NO	
L000731	X	NO	
L000737	X	NO	
L000746	X	NO	
L000747	X	NO	
L000748	X	NO	
L000749	X	NO	
L000751	X	NO	
L000754	NO	AFNOR BRD 07/06-07/04	METODO DIVERSO DA ISO, FORNITI DETTAGLI
L000757	X	NO	

Circuito Interlaboratorio Isolamento e Identificazione di *Salmonella* spp.

Edizione Laboratori privati schema SA3-2018.

PROTOCOLLO

1. Obiettivi

Il presente circuito interlaboratorio, relativo all'isolamento di *Salmonella* spp., è organizzato dal Centro di Riferenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) con lo scopo di testare la competenza dei laboratori partecipanti nell'identificazione di *Salmonella* spp. in campioni di origine animale prelevati a livello di produzione primaria.

I laboratori dovranno impiegare la metodica utilizzata di routine per analizzare i campioni prelevati nell'ambito del Piano Nazionale di Controllo delle Salmonellosi negli avicoli (metodo di cui alla ISO 6579-1:2017 o metodo alternativo validato in accordo alla ISO 16140, come indicato nel punto 4.2 del Piano stesso). Nel caso in cui il laboratorio volesse analizzare i campioni del circuito con il metodo utilizzato di routine e anche con altro metodo potrà procedere in questo senso ma dovrà riportare nel test report solo i risultati ottenuti con il metodo utilizzato di routine.

Per la preparazione dei campioni da sottoporre ad indagine è utilizzato materiale di riferimento certificato, che consiste in dischetti contenenti un livello noto di un sierotipo noto di *Salmonella* spp. e in dischetti "bianchi" ovvero non contenenti alcun microrganismo; inoltre è utilizzato materiale fecale di origine avicola negativo per *Salmonella* spp.

In particolare, per quanto riguarda il Materiale di Riferimento Certificato (MRC-Vitroids™), questo viene distribuito da Sigma-Aldrich (per maggiori dettagli: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/microbiology-products.html?TablePage=108303480>).

I laboratori dovranno allestire i campioni di prova provvedendo a contaminare le feci negative per *Salmonella* spp. con il Materiale di Riferimento fornito dal CRNS. Inoltre dovranno allestire ed analizzare dei campioni di controllo la cui composizione è descritta in dettaglio di seguito.

Il materiale trasmesso ai laboratori sarà confezionato in un contenitore di plastica contenente 1 sacchetto con circa 230 grammi di feci di pollo negative per *Salmonella* spp. e un sacchetto con 9 vials contenenti il MRC.

In particolare:

sacchetto 1: Materiale di riferimento: vials contenenti dischetti da conservare a $-20^{\circ} \pm 5^{\circ}C$:

- 7 vials per la preparazione dei campioni numerate da A1 a A7;
- 2 vials di controllo (numerazione C1, C2) per la preparazione dei controlli C1 e C2.

sacchetto 2: feci da conservare tra $+2^{\circ}C$ e $+8^{\circ}C$:

La matrice feci dovrà essere utilizzata per allestire i campioni di prova (da A1 ad A7) ed il campione di controllo matrice (C3); come descritto al punto 2.

Il materiale sarà inviato a ciascun partecipante tramite corriere.

I laboratori coinvolti dovranno contattare urgentemente il CRNS in caso di mancato recapito del materiale entro 3 giorni lavorativi dalla data di spedizione prevista e segnalare all'organizzatore al più presto eventuali problemi riscontrati all'apertura delle confezioni.

2. Modalità operative

Ciascun laboratorio esaminerà 11 campioni di cui 7 campioni di prova identificati da A1 ad A7 e 4 controlli identificati da C1 a C4.

La preparazione dei campioni da **A1** ad **A7** prevede dapprima l'allestimento dei contenitori siglati con APTS, successivamente l'aggiunta del dischetto ed infine l'aggiunta di 25 grammi di matrice ottenuti dal sacchetto 2.

I controlli comprendono: 2 controlli, **C1** e **C2**, da allestire aggiungendo all'APTS un dischetto; un controllo, **C3**, definito come "controllo matrice", da allestire aggiungendo all'APTS solo feci (senza aggiunta di dischetto) ed il controllo, **C4**, che consiste solo nell'APTS.

I terreni/ Kit o reagenti necessari ai fini dello studio NON verranno forniti dal CRNS.

2.1 Pre-arricchimento (giorno 1)

➤ **Preparazione campioni e controlli (C1, C2, C3 e C4)**

-Preparare 11 sacchetti (o altro contenitore) sterili da siglare da A1 ad A7 e da C1 a C4 e aggiungere 225 ml di APTS a temperatura ambiente a ciascun contenitore.

Nel caso in cui il metodo alternativo preveda nella fase di arricchimento di non utilizzare APTS ma altro *medium* procedere come da metodo alternativo con l'accortezza di segnalare la

tipologia di *medium* utilizzato ed il tempo e temperatura di incubazione nel campo note del test report.

➤ **Fase di contaminazione**

Porre a temperatura ambiente le vials (A1-A7; C1; C2) contenenti i dischetti circa 15 minuti prima di addizionarle ai contenitori con APTS precedentemente allestiti.

Aggiungere il dischetto contenuto in ciascuna vial al corrispondente contenitore precedentemente siglato; lasciare dissolvere i dischetti per circa 15 minuti, in termostato, a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, quindi agitare manualmente il contenuto di ciascun contenitore.

I dischetti si dissolvono completamente molto rapidamente.

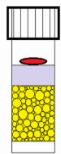
Eventuali anomalie in questa fase vanno segnalate nel Test Report.

➤ **Fase aggiunta matrice**

Aggiungere 25 g di feci prelevate dal sacchetto 2 a tutti i contenitori **tranne che a quelli siglati C1, C2 e C4.**

! Si raccomanda di rispettare scrupolosamente la corrispondenza numerica contenitore-dischetto.! Non aggiungere feci ai sacchetti C1, C2 e C4.

! Omogeneizzare delicatamente manualmente.



! I dischetti sono di colore rosso e dimensione estremamente ridotta, porre attenzione durante la manipolazione.

Ai controlli C3 e C4 non andrà aggiunto alcun dischetto

Tabella riassuntiva allestimento campioni di prova:

Campione di prova	APTS 225 ml	DISCHETTO	FECI 25g
A1	SI	SI	SI
A2	SI	SI	SI
A3	SI	SI	SI
A4	SI	SI	SI
A5	SI	SI	SI
A6	SI	SI	SI
A7	SI	SI	SI
C1	SI	SI	NO
C2	SI	SI	NO
C3	SI	NO	SI
C4	SI	NO	NO

Porre tutti i contenitori in termostato a 37 ± 1 °C per 18 ± 2 h. Registrare la temperatura ed il tempo all'inizio e alla fine del periodo di incubazione previsto; tali informazioni dovranno essere riportate nel Test Report.

Terminata la fase di incubazione i campione e i controlli sono esaminati secondo il metodo in uso presso ciascun laboratorio partecipante.

Il circuito verrà effettuato contemporaneamente da tutti i laboratori coinvolti a partire dal 7 maggio 2018.

In **AQUAWEB**, sezione "schema SA3-18" sono pubblicati i documenti:

- Pianificazione
- Protocollo

La **Scheda di sicurezza** dei campioni inviati è disponibile nel sito dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (<http://www.izsvenezie.it/servizi/circuito-interlaboratorio-aqua/>)

3. Trasmissione dei risultati

Al termine delle prove, inserire i risultati nel Test Report SA3-18 presente in AQUAWEB entro e non oltre il **4 giugno 2018**.

Oltre che all'esito per ciascun campione in termini di presenza/assenza, nel Test Report dovranno essere riportate le seguenti informazioni:

data e ora ricevimento materiale ed inizio conservazione

data e ora inizio/fine incubazione APTS e temperatura (se altro *medium* indicare queste informazioni nel campo note)

metodo utilizzato

data inizio/fine test

Sarà inoltre disponibile un campo note dove poter fornire informazioni aggiuntive qualora ritenute utili.

Nessuna altra modalità di trasmissione dei risultati potrà essere accettata e dopo la data indicata il Test Report non sarà più accessibile.

L'esito del Circuito da parte del CRNS prevede la pubblicazione in AQUAWEB del **report parziale** in cui è riportato il risultato atteso per ciascun campione di prova; tale report parziale verrà pubblicato entro il **18 giugno 2018**.

Legnaro, 23/03/2017

Dr.ssa Veronica Cibin Tel 049.8084163

Dr.ssa Cristina Saccardin Tel. 049 8084283-293

e-mail circuitisalmisolamento@izsvenezie.it



**CIRCUITO INTERLABORATORIO
ISOLAMENTO E IDENTIFICAZIONE *SALMONELLA* spp.**

**REPORT PARZIALE
SA3 2018**

Campione prova	Risultato atteso
A1	presenza
A2	presenza
A3	presenza
A4	assenza
A5	assenza
A6	presenza
A7	assenza
C1	presenza
C2	assenza
C3	assenza
C4	assenza

Data report parziale 13/06/2018 (in attesa del report definitivo).

Responsabile Circuito interlaboratorio Aqua isolamento-identificazione

Dr.ssa Veronica Cibirn Tel.0498084163 e-mail circuitisalmisolamento@izsvenezie.it

Responsabile tecnico

Dr.ssa Cristina Saccardin Tel. 049 8084283 e-mail circuitisalmisolamento@izsvenezie.it



CRN-Salmonellosi, Legnaro (PD),
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università 10
35020 LEGNARO (PD) www.izsvenezie.it

----- Fine report parziale -----