

Aqua

Circuito interlaboratorio
per l'assicurazione qualità
dei risultati

Circuito interlaboratorio di batteriologia organismi acquatici
Report definitivo schema AQUA IB 1-22
Anno erogazione 2022

Responsabile Circuito interlaboratorio AQUA Batteriologia degli organismi acquatici (AQUA IB)
Dr. Amedeo Manfrin *Tel. 049/8084458*
e-mail amanfrin@izsvenezie.it

Responsabile tecnico
Dott.ssa Eleonora Fiocchi *Tel. 049/8084459*
e-mail EFiocchi@izsvenezie.it

Responsabile statistico
Dr.ssa Mancin Marzia *Tel.049/8084431*
e-mail mmancin@izsvenezie.it

Segreteria
Nicola Loi *Tel. 049 8084117*
e-mail nloi@izsvenezie.it

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Centro di Riferenza Nazionale per le malattie dei pesci, molluschi e crostacei
V.le dell'Università 10 – 35020 LEGNARO (PD)
www.izsvenezie.it



Report definitivo

Introduzione

Nei mesi di maggio e giugno 2022, in ottemperanza a quanto previsto dall'art. 2 del Decreto 4 ottobre 1999, del Ministero della Sanità, il Centro di Riferenza Nazionale per lo studio e la diagnosi delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei, ha organizzato un circuito interlaboratorio, cui hanno aderito 8 partecipanti.

L'obiettivo principale del circuito è volto a monitorare le *capacità diagnostiche dei laboratori degli I.I.ZZ.SS.* In particolare gli agenti batterici da identificare inclusi nel pannello 2022 sono stati i seguenti:

1. *Lactococcus garvieae*
2. *Aeromonas jandaei*
3. *Streptococcus iniae*
4. *Aeromonas salmonicida*

Il presente circuito interlaboratorio (CI) è formato da 1 schema. Lo schema AQUA IB richiede ai partecipanti l'*identificazione del ceppo batterico* in modo qualitativo.

Tutti gli operatori dell'Organizzazione del circuito interlaboratorio AQUA IB sono tenuti alla riservatezza sia relativamente alla identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

Istituti Partecipanti

Al circuito interlaboratorio hanno partecipato i seguenti Istituti:

1. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe) - SCT4 Udine
2. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe) – CSI Legnaro
3. Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (IZSTO) – Torino
4. Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana (IZSLT) – Pisa
5. Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana (IZSLT) – Roma
6. Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise (IZS) – Teramo
7. Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (IZSUM) – Terni
8. Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno (IZSM) – Portici

Al fine di tutelare la riservatezza dei dati, i laboratori partecipanti sono resi anonimi e identificati esclusivamente tramite codice alfa-numerico generato automaticamente dalla piattaforma AQUAweb al momento dell'iscrizione al circuito.

SCHEMA AQUA IB 1-22: Identificazione ceppi batterici organismi acquatici

1. Caratteristiche, composizione e controllo dei campioni

1.1 Composizione dei campioni prova

Ad ogni laboratorio sono stati inviati 6 campioni liofilizzati: 4 contenenti coltura batterica del ceppo da identificare risospesa in brodo Tryptic Soy Broth con Yeast Extract (TSB+YE) e 2 contenenti solo brodo TSB+YE sterile.

Tabella 1: Composizione dello schema AQUA IB 1-22

FLACONE	CONTENUTO
1	<i>Lactococcus garvieae</i>
2	<i>Aeromonas jandaei</i>
3	Sterile
4	<i>Streptococcus iniae</i>
5	<i>Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida</i>
6	Sterile

La sterilità del brodo liofilizzato è stata confermata mediante risospensione del liofilo con brodo TSB+YE, successiva semina ed incubazione a 22°C per sette giorni. Le prove di sterilità hanno dato esito conforme. Le informazioni relative alle prove di sterilità sono disponibili, su richiesta, presso l'organizzatore.

1.2 Valutazione della omogeneità del lotto dei campioni prova

La verifica della omogeneità dei campioni prova è stata effettuata mediante risospensione del liofilo con brodo TSB+YE, successiva semina ed incubazione a 22°C per un giorno, verifica morfologica delle colonie e del ceppo batterico tramite microscopio ottico e controllo numerosità di crescita in

IZSve – Centro di Riferenza Nazionale per lo studio e la diagnosi delle malattie di pesci, molluschi e crostacei
Report definitivo emesso il 15/09/2022

piastra delle colonie.

In presenza di un lotto con un quantitativo limitato di campioni prova, cioè appena sufficiente a ricoprire l'invio dei campioni ai laboratori partecipanti, l'omogeneità infatti può non essere effettuata in accordo a quanto riportato nella ISO 17043. Nel caso specifico il Responsabile del circuito interlaboratorio ha verificato comunque il requisito di omogeneità su un numero ridotto di campioni prova pari a n per ogni lotto di produzione.

Le procedure di prova utilizzate sono:

- PDP ITT 050: "Esame batteriologico nelle specie ittiche".

Le informazioni relative alle prove di omogeneità sono disponibili, su richiesta, presso l'organizzatore.

1.3 Valutazione della stabilità del lotto dei campioni prova

L'identificazione del batterio oggetto di valutazione nel CI, controllata in fase di verifica dell'omogeneità, non è soggetta a cambiamenti nel tempo ed è quindi da ritenersi stabile, come tale, nel periodo di esecuzione del circuito.

Ci può essere però una riduzione della vitalità del ceppo batterico contenuto nei campioni prova con il passare del tempo. Per escludere quindi una perdita di vitalità totale del ceppo batterico, i liofilati sono stati risospesi e valutati in tre momenti differenti: post liofilizzazione, all'inizio e alla fine del circuito.

Le informazioni relative alle prove di stabilità sono disponibili, su richiesta, presso l'organizzatore.

2. Invio e risospensione dei campioni

I flaconi sono stati inviati ad ogni laboratorio partecipante. La procedura contenente le modalità operative da seguire per l'identificazione è stata inviata a ciascun partecipante.
Periodo per l'esecuzione delle prove: dal 18/05/2022 al 24/06/2022.

3. Valori assegnati

Per le prove qualitative di identificazione dei ceppi batterici del circuito AQUA IB 1-22, il valore assegnato coincide con il valore atteso che è definito dall'organizzatore del circuito, in quanto derivante dalla conoscenza della preparazione dei campioni prova da analizzare e/o dall'utilizzo di materiale di riferimento.

Per questa tipologia di circuiti interlaboratorio, non vengono fornite statistiche di sintesi come media e/o deviazione standard di risultati indicanti proprietà qualitative e informazioni quantitative in merito all'incertezza del valore assegnato in quanto non appropriate. Inoltre, non sono previste procedure statistiche per l'identificazione e gestione di valori anomali ed errori grossolani in quanto non appropriate alla tipologia di risposta richiesta dal circuito interlaboratorio.

4. Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance

In accordo a quanto indicato nella ISO 13528, in presenza di un circuito interlaboratorio qualitativo, la valutazione della performance viene effettuata attribuendo dei punteggi alle risposte dei partecipanti in relazione al valore assegnato.

Il metodo di valutazione del circuito in esame prevede che siano assegnati 2 punti per ogni campione prova il cui contenuto è stato correttamente identificato (genere e specie). Viene dato 1 punto nel caso di mancata o errata individuazione di specie batterica, ma genere corretto, mentre, nel caso di mancata o di non corretta identificazione sia di genere che specie batterica vengono dati 0 punti. La prestazione del laboratorio è ritenuta accettabile dal Responsabile del circuito AQUA IB se la somma dei punteggi è superiore/uguale a 9 punti su 12.

5. Risultati circuito

7 laboratori su 8 partecipanti al circuito hanno identificato correttamente il contenuto di 6 flaconi totalizzando quindi il punteggio 12.

Il laboratorio L000410 non ha identificato correttamente la specie *Aeromonas jandaei*.

In Tabella 1 sono riportati i risultati ottenuti dai singoli laboratori, relativamente all'identificazione del contenuto dei singoli flaconi e il punteggio totale ottenuto.

Tabella 1: Risultati e punteggio complessivo dei diversi laboratori partecipanti al circuito interlaboratorio AQUA IB 1-22

Codice laboratorio	Data inizio analisi	Data fine analisi	Macro – Micro metodo	Biologia Molecolare	MALDI-TOF / Altro	Flacone 1	Flacone 2	Flacone 3	Flacone 4	Flacone 5	Flacone 6	Punteggio ottenuto
L000338	23/05/2022	14/06/2022	E	E	E	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Aeromonas jandaei</i>	Sterile	<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>	Sterile	12
L000392	14/06/2022	21/06/2022	E	NE	NE	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Aeromonas jandaei</i>	Sterile	<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>	Sterile	12
L000410	16/06/2022	24/06/2022	E	NE	E	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Aeromonas sp.</i>	Sterile	<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>	Sterile	11
L000417	23/05/2022	13/06/2022	E	E	NE	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Aeromonas jandaei</i>	Sterile	<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>	Sterile	12
L000426	24/05/2022	17/06/2022	NE	NE	E	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Aeromonas jandaei</i>	Sterile	<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida</i>	Sterile	12
L000461	23/05/2022	15/06/2022	-	-	-	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Aeromonas jandaei</i>	Sterile	<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>	Sterile	12
L000682	18/05/2022	25/05/2022	E	NE	E	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Aeromonas jandaei</i>	Sterile	<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>	Sterile	12
L000899	23/05/2022	31/05/2022	E	NE	E	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Aeromonas jandaei</i>	Sterile	<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida</i>	Sterile	12

Legenda: E=Eseguito, NE= Non eseguito, - =Non compilato. Legenda: I risultati errati vengono segnati in rosso

IZSV – Centro di Riferenza Nazionale per lo studio e la diagnosi delle malattie di pesci, molluschi e crostacei
Report definitivo emesso il 15/09/2022

6. Elaborazioni statistiche

L'analisi dei campioni del circuito fornisce una risposta di tipo qualitativo nominale. Al laboratorio partecipante viene richiesta l'identificazione di genere e specie.

La statistica Kappa di Cohen è una misura dell'accordo (*coefficient of agreement*) tra le risposte qualitative o categoriali di ogni laboratorio partecipante e del laboratorio di riferimento detto gold standard e dell'accordo tra i laboratori partecipanti (K complessivo).

L'indice *K* di concordanza può assumere valori compresi tra -1 (massimo disaccordo) e +1 (massimo accordo). Se l'accordo osservato è uguale all'accordo atteso per effetto del caso, *K* assume un valore uguale a 0 (accordo nullo). Ad ogni valore di *K* è associata la significatività (*p-value*) che indica se l'accordo osservato è reale o semplicemente dovuto al caso.

A scopo interpretativo, si suggerisce l'utilizzo della scala di *Landis & Koch* così strutturata:

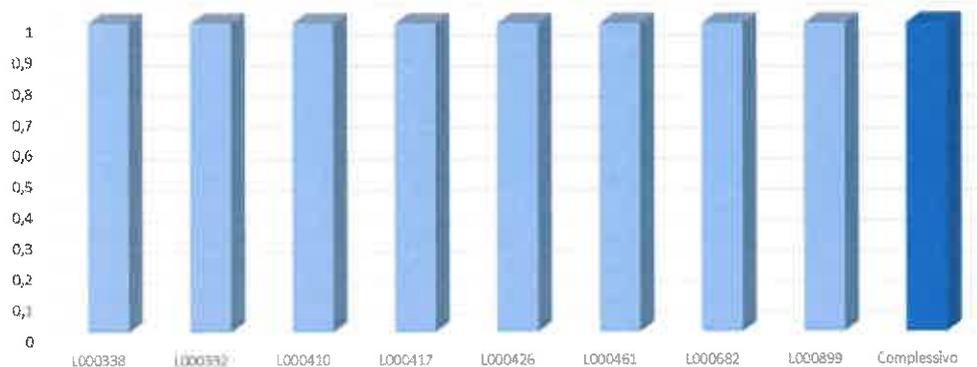
K	Riproducibilità
≤ 0	Scarsissima
0.01-0.20	Scarsa
0.21-0.40	Discreta
0.41-0.60	Moderata
0.61-0.80	Buona
0.81-1.00	Ottima

6.1 Elaborazioni statistiche circuito AQUA IB 1-22

I risultati della statistica Kappa di Cohen del CI AQUA IB 1-22 sono i seguenti:

Laboratorio	Kappa	p-value
L000338	1	0.0000
L000392	1	0.0000
L000410	1	0.0000
L000417	1	0.0000
L000426	1	0.0000
L000461	1	0.0000
L000682	1	0.0000
L000899	1	0.0000
Complessivo	1	0.0000

Concordanza Ring trial AQUA IB/22



7. Conclusioni

8 laboratori su 8 hanno identificato correttamente i batteri contenuti nei campioni prova. Tutti i laboratori hanno mostrato un'ottima concordanza con il risultato atteso. Tutti i valori di K calcolati sono significativi e quindi non dovuti al caso.

Informativa sulla privacy

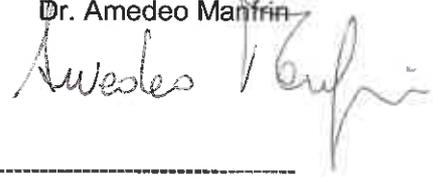
Ai sensi degli artt. 13 e 14 Reg UE 2016/679 si rende la presente informativa privacy.

Titolare del trattamento: ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE VENEZIE (in sigla IZSVE), con sede legale in 35020 LEGNARO (PD), Viale dell'Università 10, C.F. e P.IVA 00206200289, in persona del Direttore generale e legale rappresentante pro tempore tel 0498084242, e-mail dirigen@izsvenezie.it. In particolare, i dati verranno trattati dal personale delle strutture complesse che erogano il circuito AQUA. Responsabile della protezione dei dati dell'IZSVE ai sensi dell'art. 37 GDPR (RPD/DPO), contattabile all'indirizzo e-mail dpo@izsvenezie.it.

Tipologia di dati e fonti: dati comuni, anagrafici e identificativi. Provengono tutti dall'Interessato. Finalità e modalità: i dati saranno trattati per l'adempimento di obblighi legali connessi all'iscrizione / adesione al circuito Aqua; il trattamento avverrà in modo sia manuale/cartaceo, che elettronico. Base giuridica: il trattamento si fonda, oltre che sul consenso manifestato tramite conferimento volontario dei dati, sull'adempimento di un obbligo contrattuale nonché sul legittimo interesse del Titolare. Obbligatorietà: il conferimento dei dati è obbligatorio e la sua mancanza comporta l'impossibilità per il Titolare di eseguire la prestazione richiesta e di evadere la richiesta di iscrizione al circuito Aqua. Destinatari: i dati potranno essere comunicati a soggetti all'uopo Incaricati dal Titolare, a Responsabili del trattamento e consulenti del Titolare. Conservazione: i dati saranno conservati fino a revoca del consenso. Diritti: l'Interessato può esercitare i suoi diritti di accesso, rettifica, cancellazione, limitazione, portabilità, opposizione via email ai dati del Titolare di cui sopra. Reclamo: l'Interessato può proporre reclamo al Garante per la protezione dei dati personali. Revoca: il consenso può essere revocato, ma ciò potrebbe comportare l'impossibilità di evadere la richiesta di iscrizione al circuito Aqua o la cancellazione dell'iscrizione al circuito medesimo.

Data report definitivo 15/09/2022

Il Responsabile del Circuito Interlaboratorio AQUA IB
Dr. Amedeo Manfrin



----- Fine report -----