



Circuito interlaboratorio
per l'assicurazione qualità
dei risultati



Circuito interlaboratorio di Sierotipizzazione di *Salmonella* Spp.

Report definitivo schema AQUA SA1/SA2-22

Anno di erogazione 2022

Sommario

1. Introduzione	4
2. Caratteristiche, composizione e controllo campioni	5
3. Invio, istruzioni e modalità operative	6
4. Valori assegnati	7
5. Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance relativamente allo Schema SA1	8
6. Risultati Schema SA1	8
7. Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance relativamente allo Schema SA2	16
8. Risultati Schema SA2	17
9. Commenti generali SA1 e SA2	21
10. Discussione e raccomandazioni finali	24
NOTE	25

Indice Tabelle

Tab. 1 - Formule antigeniche dei ceppi di <i>Salmonella</i> spp. utilizzati (schema di Kauffmann-White-Le Minor, 2007 e successive modifiche ed integrazioni)	5
Tab. 2- Formule antigeniche dei ceppi di <i>Salmonella</i> spp. inclusi nel circuito SA2 (schema di Kauffmann-White- Le Minor 2007 e successive modifiche ed integrazioni)	6
Tab. 3 - Calendario attività	7
Tab. 4 - Penalità complessive per ciascun laboratorio partecipante [SA1]	8
Tab. 5 – Attribuzione esiti per laboratorio	9
Tab. 6 - Risultati del test per ceppo	11
Tab. 7 – Dettaglio delle sierotipizzazioni non corrette per ceppo	12
Tab. 8 - Valore di concordanza K e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante e complessivo del Circuito [SA1]	15
Tab. 9 - Scala di Landis & Koch	16
Tab. 10 – Penalità complessive per ciascun laboratorio partecipante [SA2]	17
Tab. 11 - Espressione dei risultati [SA2] - (S.E: S. Enteritidis; S.T: S. Typhimurium; STV: Variante Monofasica di S. Typhimurium)	17
Tab. 12 – Attribuzione esiti per laboratorio [SA2]	18
Tab. 13 – Risultati del test per ceppo [SA2]	20
Tab. 14 – Valore di concordanza K e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante e complessivo del Circuito [SA2]	20
Tab. 15 - Scala di Landis & Koch [SA2]	21

Indice Grafici

Grafico 1 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio	9
Grafico 2 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio.....	10
Grafico 3 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratorio	10
Grafico 4 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo	13
Grafico 5 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo	14
Grafico 6 - Risultati identificazione dei sierotipi.....	15
Grafico 7 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo	16
Grafico 8 – Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio [SA2]	18
Grafico 9 – Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio [SA2]	19
Grafico 10 - Risultati dell'identificazione dei sierotipi per laboratorio	19
Grafico 11 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo [SA2]	21
Grafico 12 - Identificazione degli antigeni somatici per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)	22
Grafico 13 - Identificazione degli antigeni ciliari per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)	22
Grafico 14 - Identificazione dei sierotipi per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)	22
Grafico 15 - Identificazione degli antigeni somatici per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)	23
Grafico 16 - Identificazione degli antigeni ciliari per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)	23
Grafico 17 - Identificazione dei sierotipi per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)	23

Responsabile circuito interlaboratorio sierotipizzazione di *Salmonella* spp

Dott.ssa Lisa Barco

e-mail lbarco@izsvenezie.it

Responsabile tecnico

Dott.ssa Cristina Saccardin

e-mail csaccardin@izsvenezie.it

Responsabile statistico

Dott.ssa Marzia Mancin

e-mail mmancin@izsvenezie.it

Segreteria

Dott.ssa Paola Pestelli

e-mail CRNS.circuiti@izsvenezie.it

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Microbiologia Generale e Sperimentale
Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi
V.le dell'Università 10-35020 LEGNARO (PD)
www.izsvenezie.it

1. INTRODUZIONE

Il presente report descrive i risultati relativi al XXII Circuito di sierotipizzazione *Salmonella* spp. (edizione 2022) organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS).

Il circuito consta di due schemi:

- **SA1-22** il cui obiettivo è valutare la capacità dei laboratori partecipanti di sierotipizzare i ceppi di *Salmonella* spp.; lo schema prevede l'analisi di **20 ceppi**;
- **SA2-22** il cui obiettivo è valutare la capacità dei laboratori partecipanti di identificare (o escludere) i sierotipi *S. Enteritidis* (SE), *S. Typhimurium* (ST) e Variante Monofasica di *S. Typhimurium* (VMST); questo schema prevede l'analisi di **10 ceppi**.

Il circuito è rivolto ai laboratori degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS) del territorio nazionale e/o afferenti ad altri enti pubblici e/o laboratori privati.

Lo schema specifico SA2 è proposto per soddisfare le richieste di alcuni laboratori che hanno esclusiva necessità di testare la capacità di identificare e/o escludere alcuni specifici sierotipi. L'identificazione di ST, SE e VMST in campioni prelevati in gruppi di *Gallus gallus* e tacchini comporta, in accordo al PNCS (Piano Nazionale di Controllo della Salmonellosi negli avicoli) l'applicazione di misure sanitarie restrittive. Di conseguenza per alcuni laboratori, la sierotipizzazione di ceppi di *Salmonella* è mirata all'identificazione esclusiva (o alla esclusione) di questi tre sierotipi.

1.1 LABORATORI PARTECIPANTI

I laboratori partecipanti ai due schemi sono di seguito elencati:

- IZS dell'Abruzzo e del Molise, sede di Teramo (*)
- IZS della Lombardia e dell'Emilia Romagna, sede di Brescia
- IZS della Puglia e della Basilicata, sede di Foggia
- IZS del Mezzogiorno, sede di Portici (*)
- IZS della Sicilia, sede Palermo (*)
- IZS dell'Umbria e delle Marche, sede di Tolentino
- IZS Umbria Marche - Microbiologia alimenti, sede di Perugia
- IZS Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, sede di Torino
- IZS Lazio e Toscana, sede di Roma
- Laboratorio ATS Milano
- Laboratorio privato GESCO, sede Brescia
- Laboratorio privato TRE VALLI, sede di Verona
- Laboratorio privato GESCO, sede di Cesena
- Laboratorio privato VALLERANA, sede di Cremona

(*) Laboratori che hanno eseguito entrambi gli schemi.

Allo schema SA1-22 hanno preso parte 3 laboratori privati, 9 laboratori afferenti agli IIZZSS e 1 laboratorio della Regione Lombardia.

Un laboratorio (L356), nella scheda di inserimento dei risultati, ha riportato formule antigeniche incomplete identificando il gruppo somatico di appartenenza con nota di esclusione dei sierotipi rilevanti. La sua partecipazione non soddisfa pienamente l'obiettivo dello schema di identificazione del sierotipo di *Salmonella* spp. non allineandosi alle modalità previste per questa tipologia di schema nonchè alle performance degli altri partecipanti pertanto non verrà considerato nella valutazione individuale e complessiva.

Al circuito SA2-22 hanno partecipato 1 laboratorio privato e 3 laboratori afferenti agli IIZZSS.

Al fine di tutelare la riservatezza dei dati nel presente documento i laboratori partecipanti sono resi anonimi a identificati esclusivamente tramite codice alfa-numerico.

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

2. CARATTERISTICHE, COMPOSIZIONE E CONTROLLO CAMPIONI

I ceppi utilizzati per il circuito, provenienti dalla collezione del CRNS, includevano ceppi ricevuti dall' European Union Reference Laboratory for Salmonella (EURL-Salmonella presso RIVM - NL) in occasione dei precedenti PTs (Proficiency Tests) da considerarsi pertanto Materiali di Riferimento.

La selezione dei ceppi da includere nel circuito è stata effettuata in modo tale da garantire una certa variabilità in termini di antigeni somatici e flagellari espressi e da assicurare la presenza dei sierotipi considerati rilevanti nell'ambito del PNCS.

Le caratteristiche antigeniche riferibili al sierotipo di appartenenza sono state confermate dalle procedure di sierotipizzazione, sia mediante metodica di agglutinazione (ISO TR 6579-3:2014), sia mediante metodo molecolare basato su tecnologia bead-suspension array in fase liquida.

2.1 COMPOSIZIONE DEI CAMPIONI PROVA

Ai singoli partecipanti sono stati inviati 20 ceppi da sottoporre a sierotipizzazione per lo schema SA1 e 10 ceppi per lo schema SA2.

Nella tabella 1 sono riportate le formule antigeniche e il sierotipo dei ceppi inviati ai partecipanti dello schema SA1.

N. Campione	Risultato Atteso		
	Antigene Somatico	Antigeni ciliari	Sierotipo
S1	13,23	i:e,n,z ₁₅	S. Jukestown
S2	<u>1</u> ,4,[5],12	i:1,2	S. Typhimurium
S3	6,8	z ₁₀ :e,n,x	S. Hadar
S4	<u>1</u> ,4,12,27	z ₂₉ :-	S. Brancaster
S5	8	d:1,2	S. Virginia
S6	<u>1</u> ,13,23	g,m,[s],[t]:-	S. Agbeni
S7	<u>1</u> ,9,12	g,m:-	S. Enteritidis
S8	1,4[5],12	i:-	VMST
S9	6,7, <u>14</u>	i:1,2	S. Augustenborg
S10	<u>1</u> ,4,12,[27]	l,[z ₁₃],z ₂₈ :1,5	S. Tyresoe
S11	11	l,v:1,2	S. Stendal
S12	6,8	e,h:1,5	S. Kottbus
S13	<u>1</u> ,9,12	a:e,n,z ₁₅	S. Durban
S14	6,7	e,h:1,2	S. Larochelle
S15	6,7, <u>14</u>	r:1,2	S. Virchow
S16	6,7, <u>14</u>	y:1,5	S. Bareilly
S17	3,10	b:e,n,x	S. Benfica
S18	6,7, <u>14</u>	r:1,5	S. Infantis
S19	4,12,[27]	b:1,6	S. Canada
S20	3,{10}{ <u>15</u> }	r:z ₆	S. Weltevreden

Tab. 1 - Formule antigeniche dei ceppi di *Salmonella* spp. utilizzati (schema di Kauffmann-White-Le Minor, 2007 e successive modifiche ed integrazioni)

Ai partecipanti SA2 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 (Tabella 2) sono riportati i sierotipi testati con la rispettiva formula antigenica completa:

Ceppo N.	Sierotipo	Antigene O	Antigene H
1	S. Enteritidis	<u>1</u> ,9,12	g,m:-
2	S. Enteritidis	<u>1</u> ,9,12	g,m:-
3	S. Typhimurium	<u>1</u> ,4,[5],12	i:1,2
4	S. Variante Monofasica di S.Typhimurium	1,4,[5],12	i:-
5	S. Infantis	6,7, <u>14</u>	r:1,5
6	S. Virchow	6,7, <u>14</u>	r:1,2
7	S. Variante Monofasica di S.Typhimurium	1,4,[5],12	i:-
8	S. Typhimurium	<u>1</u> ,4,[5],12	i:1,2
9	S. Variante Monofasica di S.Typhimurium	1,4,[5],12	i:-
10	S. Variante Monofasica di S.Typhimurium	1,4,[5],12	i:-

Tab. 2- Formule antigeniche dei ceppi di *Salmonella* spp. inclusi nel circuito SA2 (schema di Kauffmann-White- Le Minor 2007 e successive modifiche ed integrazioni)

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

2.2 PROVE DI OMOGENEITÀ E STABILITÀ

Le prove di omogeneità e stabilità dei campioni prova sono state eseguite con le seguenti metodiche: sierotipizzazione, sia mediante metodica di agglutinazione (ISO TR 6579-3:2014), sia mediante metodo molecolare.

I campioni prova sono risultati omogenei e stabili in quanto concordi con il risultato atteso.

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

3. INVIO, ISTRUZIONI E MODALITÀ OPERATIVE

A fine 2021 nel sito web dell'IZSVe (<http://www.izsvenezie.it/servizi/altri-servizi/circuitointerlaboratorio-aqua/>) sono stati pubblicati i calendari degli schemi disponibili per il 2022 e la relativa scheda di sicurezza.

La partecipazione al Circuito Interlaboratorio prevede la formalizzazione dell'iscrizione attraverso il gestionale dedicato Aquaweb, al quale i partecipanti possono accedere utilizzando le credenziali personali.

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

Nel gestionale Aquaweb sono pubblicati anche i documenti specifici relativi a ciascuno schema.

Nel mese di febbraio 2022 a tutti i partecipanti è stato reso disponibile il documento relativo alla pianificazione del circuito con i dettagli delle attività previste.

Il calendario di pianificazione è stato reso disponibile ai laboratori partecipanti, nella piattaforma Aquaweb, in data 07/03/2022. Si riporta di seguito il calendario di pianificazione definitivo degli schemi SA1 e SA2 per il 2022.

Data	Attività
Entro 31/01/2022 07/03/2022	Scadenza iscrizioni Aquaweb Invio pianificazione
Settimana dal 21/03/2022	Spedizione ceppi
A partire dal 28/03/2022	Analisi dei ceppi da parte di ciascun laboratorio partecipante
Entro il 03/05/2022 per coloro che partecipano ad una singola sezione (SA1 o SA2)	I laboratori devono inviare la scheda di inserimento dei risultati al CRNS
Entro il 03/05/2022 per coloro che partecipano ad entrambe le sezioni (SA1 o SA2)	
Entro il 09/05/2022	Controllo risultati e invio risultati attesi da parte del CRNS ai partecipanti

Tab. 3 - Calendario attività

I campioni prova del circuito sono stati confezionati per il trasporto di materiale biologico e inviati alla temperatura di refrigerazione. Ai partecipanti è consigliato di procedere ad allestire una brodo-coltura e di seminare nuovamente in Agar Triptosis (o altro terreno utilizzato routinariamente) i ceppi dei campioni prova.

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

I risultati del circuito sono stati inseriti da ciascun partecipante nella scheda di inserimento dei risultati, resa disponibile nel gestionale Aquaweb, con le informazioni relativamente ai sieri utilizzati e al metodo applicato da ciascun partecipante.

4. VALORI ASSEGNATI

Per le prove qualitative di sierotipizzazione del circuito AQUA SA, il valore assegnato coincide con il valore atteso che è definito dall'organizzatore del circuito AQUA SA in quanto derivante dalla conoscenza della preparazione dei campioni prova da analizzare o dall'utilizzo di materiale di riferimento.

5. ELABORAZIONE DEI RISULTATI DELLE ANALISI SUI CAMPIONI PROVA E VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE RELATIVAMENTE ALLO **SCHEMA SA1**

Per valutare il livello di performance di ciascun partecipante sono stati utilizzati i criteri adottati dall' EURL-Salmonella, che organizza annualmente il circuito di sierotipizzazione per i Centri di Referenza Nazionali.

Sono attribuiti punti di penalità per i ceppi non tipizzati correttamente, distinguendo i ceppi appartenenti ai cinque sierotipi rilevanti per la salute pubblica in accordo al Regolamento (CE) 2160/2003 e successive modifiche ed integrazioni (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, inclusa la variante monofasica di *S. Typhimurium*, *S. Hadar*, *S. Infantis* e *S. Virchow*) da quelli appartenenti a sierotipi diversi.

Nello specifico, sono state attribuite:

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

Di seguito viene fornita sintesi delle penalità attribuite a ciascun laboratorio partecipante.

cod.lab	L366	L426	L452	L453	L459	L472	L474	L475	L539	L540	L646	L698
Penalità n.	2	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0

Tab. 4 - Penalità complessive per ciascun laboratorio partecipante [SA1]

6. RISULTATI SCHEMA SA1

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;
- confronto tra i risultati ottenuti dai partecipanti nei PT organizzati (triennio compreso anno di erogazione);

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.

Nella tabella 5 sono riportati i risultati per laboratorio partecipante.

Per sierotipizzazione problematica si intende una sierotipizzazione non esente da aspetti critici intrinseci, verosimilmente a causa di una cross reazione dei sieri utilizzati.

Codice lab	Antigene somatico			Antigeni ciliari			Sierotipo		
	Tipizz. corretta	Tipizz. non corretta	Tipizz. problematica	Tipizz. corretta	Tipizz. non corretta	Tipizz. problematica	Tipizz. corretta	Tipizz. non corretta	Tipizz. problematica
L366	20	0	0	18	2	0	18	2	0
L426	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L452	19	1	0	20	0	0	19	1	0
L453	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L459	19	1	0	20	0	0	19	1	0
L472	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L474	19	1	0	20	0	0	19	1	0
L475	19	1	0	20	0	0	19	1	0
L539	19	1	0	20	0	0	19	1	0
L540	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L646	20	0	0	19	1	0	19	1	0
L698	20	0	0	20	0	0	20	0	0

Tab. 5 – Attribuzione esiti per laboratorio

Sette laboratori hanno sierotipizzato correttamente 19 ceppi su 20 (codice L426-L452-L459-L474-L475-L539-L646). Un laboratorio ha sierotipizzato correttamente 18 ceppi su 20 (codice L366). Per i rimanenti 4 laboratori tutte le sierotipizzazioni sono risultate corrette.

I grafici 1, 2 e 3 riassumono i risultati ottenuti dai singoli laboratori per quanto riguarda rispettivamente la sierotipizzazione degli antigeni somatici, ciliari e l'identificazione dei sierotipi.

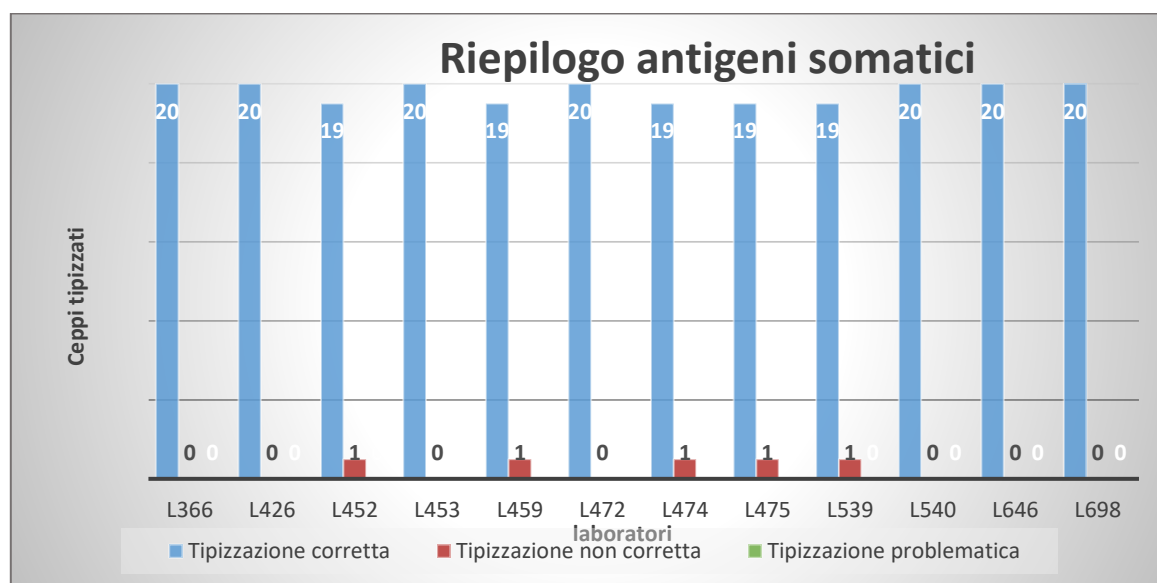


Grafico 1 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio

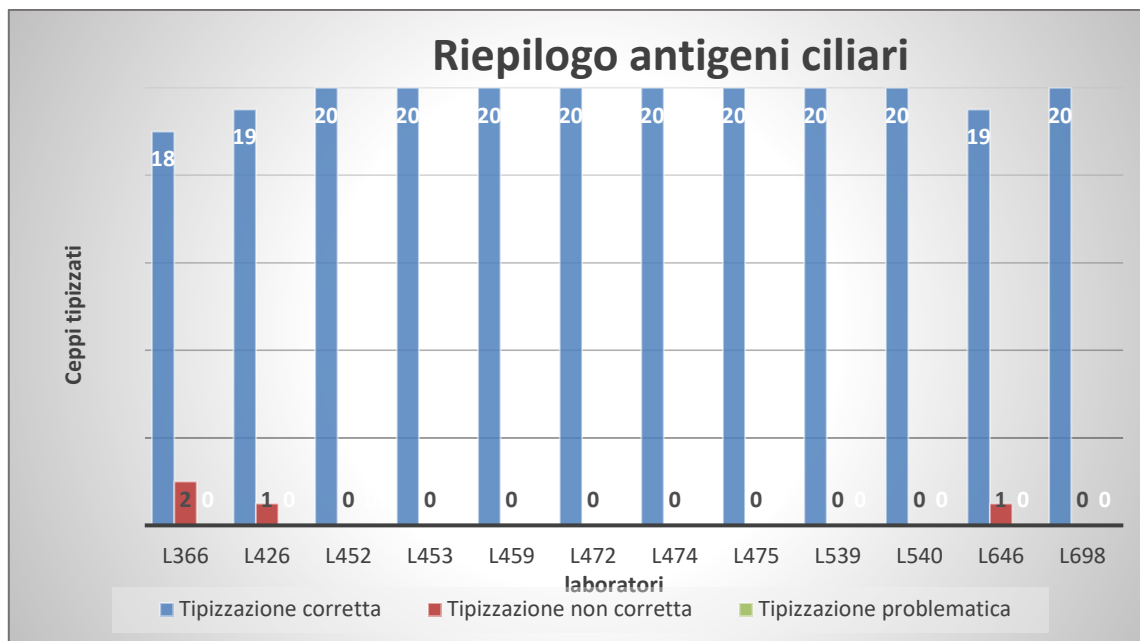


Grafico 2 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio

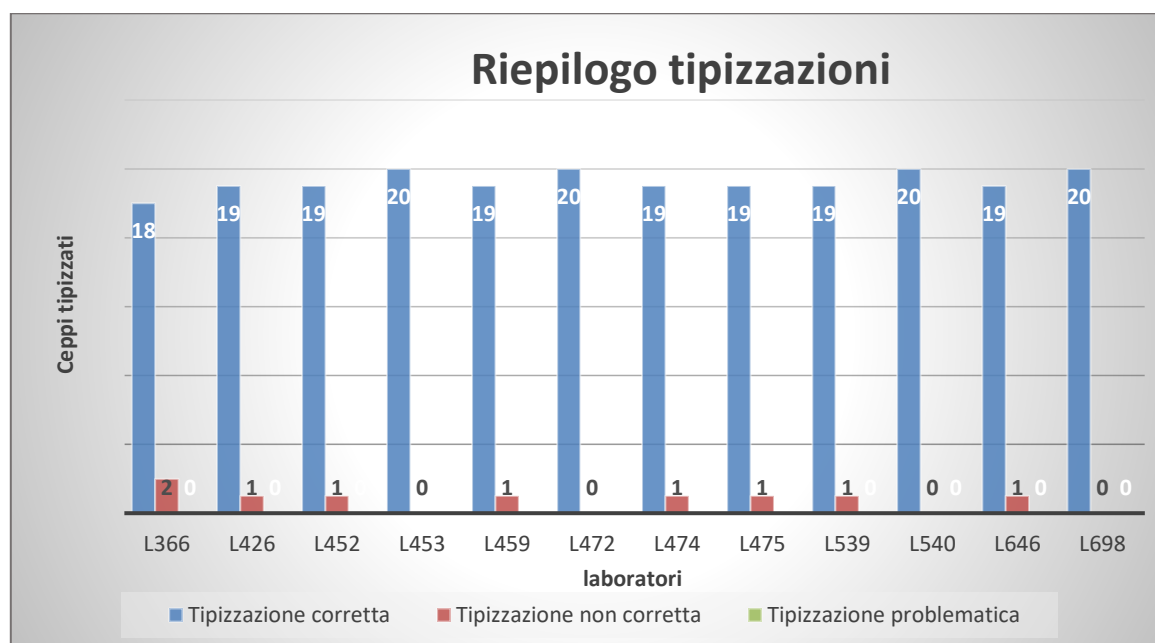


Grafico 3 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratorio

Quindici dei venti ceppi testati sono stati sierotipizzati in modo corretto da tutti i dodici i laboratori partecipanti. I sierotipi per i quali sono emersi problemi d'identificazione sono stati: S. Virginia, S. Tyresoe, S. Kottbus, S. Larochele e S. Bareilly.

In tabella 6 vengono riportati i risultati per ceppo.

	Antigene somatico			Antigeni ciliari			Sierotipizzazione		
	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/ problematica	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/ problematica	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/ problematica
S. Jukestown	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Typhimurium	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Hadar	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Brancaster	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Virginia	8	4	0	12	0	0	8	4	0
S. Agbeni	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Enteritidis	12	0	0	12	0	0	12	0	0
VMST	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Augustenborg	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Tyresoe	12	0	0	10	2	0	10	2	0
S. Stendal	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Kottbus	12	0	0	11	1	0	11	1	0
S. Durban	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Larochelle	11	1	0	12	0	0	11	1	0
S. Virchow	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Bareilly	12	0	0	11	1	0	11	1	0
S. Benfica	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Infantis	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Canada	12	0	0	12	0	0	12	0	0
S. Weltevreden	12	0	0	12	0	0	12	0	0

Tab. 6 - Risultati del test per ceppo

Nella tabella 7 vengono elencati i sierotipi per i quali si sono verificati problemi d'identificazione legati alla non corretta individuazione degli antigeni somatici e ciliari ed il laboratorio cui è attribuito l'errore. In corrispondenza del codice laboratorio CRNS viene indicato il risultato atteso.

N. ceppo	Sierotipo	Antigeni O	Antigeni H	Codice laboratorio
S5	S. Virginia	8	d:1,2	CRNS
	S. Muenchen	6,8	d:1,2	L452
	S. Muenchen	6,8	d:1,2	L474
	S. Muenchen	6,8	d:1,2	L475
	S. Muenchen	6,8	d:1,2	L539
S10	S. Tyresoe	1,4,12,[27]	I,[z₁₃],z₂₈:1,5	CRNS
	S. Massena	4,12	k:1,5	L366
	S. Eppendorf	4,12,27	d:1,5	L426
S12	S. Kottbus	6,8	e,h:1,5	CRNS
	S. Tshiongwe	6,8	e,h:e,n,z ₁₅	L366
S14	S. Larochelle	6,7	e,h:1,2	CRNS
	S. Newport	6,8	e,h:1,2	L459
S16	S. Bareilly	6,7,14	y:1,5	CRNS
	S. Gatow	6,7	y:1,7	L646

Tab. 7 – Dettaglio delle sierotipizzazioni non corrette per ceppo

I grafici 4, 5 e 6 riassumono i risultati dell'identificazione degli antigeni somatici, degli antigeni ciliari e del sierotipo declinati per sierotipo.

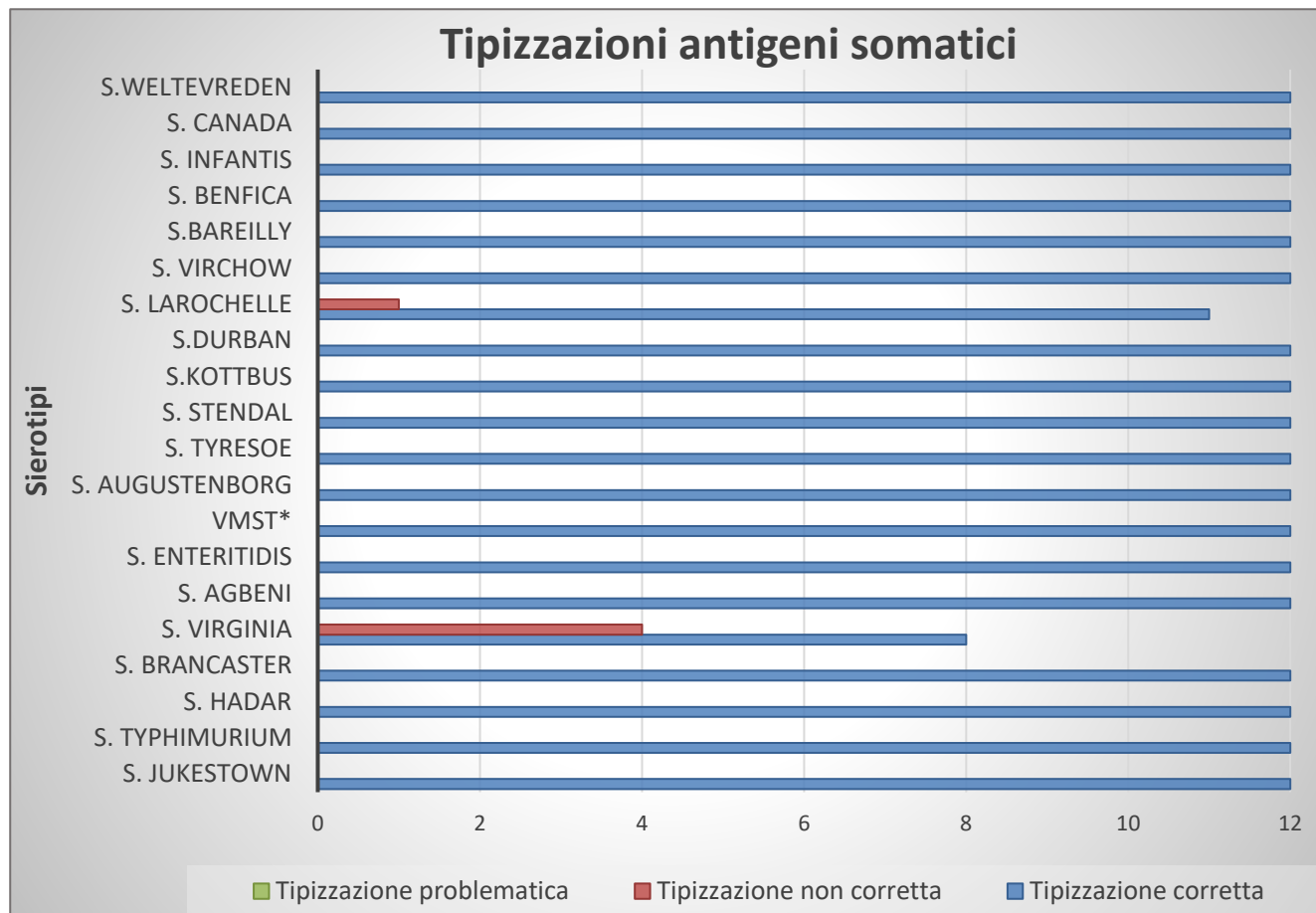


Grafico 4 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo

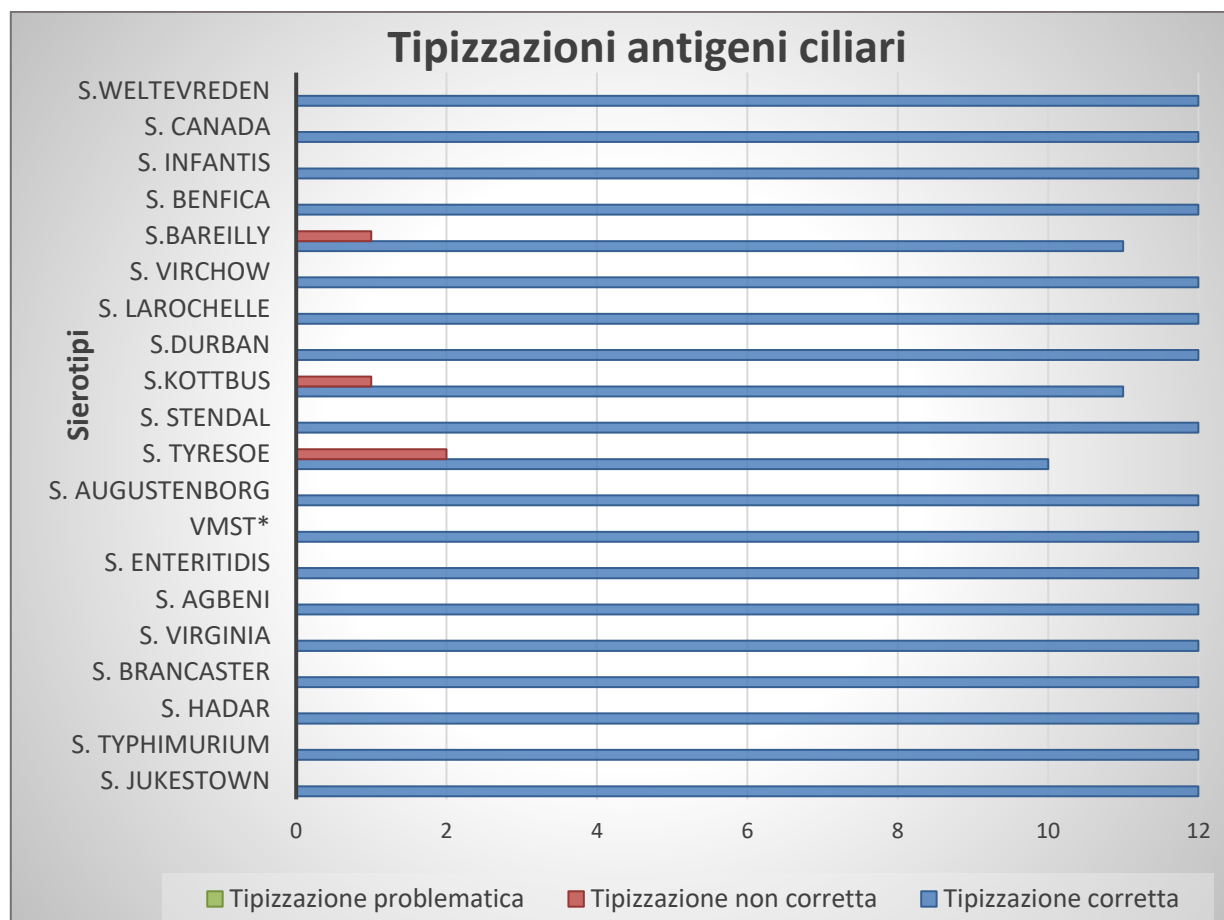


Grafico 5 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo



Grafico 6 - Risultati identificazione dei sierotipi

In data 09/05/22 è stato pubblicato il report parziale nella piattaforma Aquaweb, relativo al risultato atteso per ciascun isolato previsto dal circuito. In tal modo, ogni laboratorio partecipante ha potuto verificare la concordanza o la discordanza tra i propri risultati e gli esiti.

Per ogni laboratorio partecipante è stata calcolata la statistica K di Cohen, che indica il grado di accordo tra i risultati forniti dal singolo laboratorio partecipante ed il valore assegnato che coincide con l'esito atteso definito dall'ente organizzatore del circuito. E' stato calcolato inoltre il grado di accordo complessivo tra i laboratori partecipanti.

Il valore di K ottenuto per ciascun laboratorio, quello complessivo e il relativo livello di significatività (p-value) è riportato in tabella 8. In tabella 9 viene fornita l'interpretazione del valore numerico della statistica K.

	L366	L426	L452	L453	L459	L472	L474	L475	L539	L540	L646	L698	complessivo
K	0,895 3	0,947 5	0,947 5	1,000 0	0,947 5	1,000 0	0,947 5	0,947 5	0,947 5	1,000 0	0,947 5	1,000 0	0,9324
p-value	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,000 0	0,0000

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

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. 9 - Scala di Landis & Koch

Confrontando i risultati ottenuti dai singoli laboratori con scala di Landis & Koch (Tabella 6), che fornisce un'indicazione per interpretare il livello di concordanza di un laboratorio sulla base del valore K ottenuto, si può concludere che tutti i laboratori partecipanti hanno ottenuto una concordanza tra 0.8953 e 1.

Valutando i dati complessivi la concordanza dell'intero circuito è risultata "ottima" pari a **0.9324**.

Nel grafico 7 viene fornita la valutazione in termini di concordanza nel tempo da cui si evince sempre una performance generale soddisfacente.

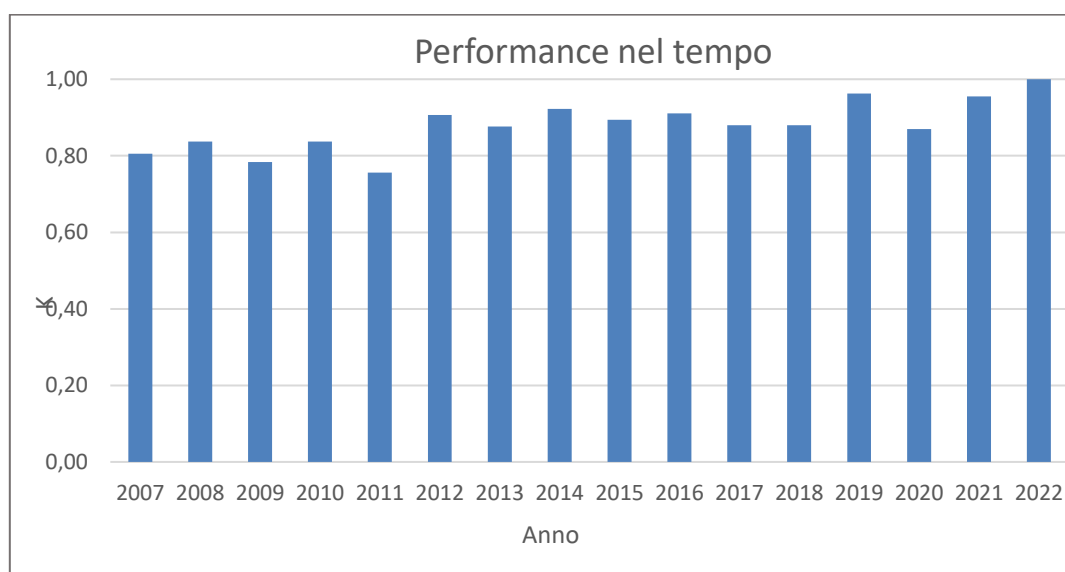


Grafico 7 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo

7. ELABORAZIONE DEI RISULTATI DELLE ANALISI SUI CAMPIONI PROVA E VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE RELATIVAMENTE ALLO SCHEMA SA2

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

Anche in questo caso la valutazione della performance è vincolata all'attribuzione di penalità. Ad una non corretta identificazione del sierotipo sono attribuiti 2 punti di penalità; per attribuzione errata a variante monofasica di *S. Typhimurium* di un ceppo di *S. Typhimurium* o viceversa è attribuito 1 punto di penalità.

Una "buona performance" è raggiunta se il laboratorio partecipante ottiene un numero di penalità inferiore a 3.

In Tabella 10 sono riportati i punti di penalità relativi ai singoli partecipanti.

Cod.lab	L453	L491	L539	L540
Penalità	0	0	0	0

Tab. 10 – Penalità complessive per ciascun laboratorio partecipante [SA2]

8. RISULTATI SCHEMA SA2

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;

Il circuito SA2 prevedeva l'identificazione esclusiva dei sierotipi *S. Enteritidis* (SE) *S. Typhimurium* (ST) e variante monofasica di *S. Typhimurium* (VMST).

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

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

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

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

	Antigene somatico			Antigeni ciliari			Sierotipizzazione		
	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/ problematica	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/ problematica	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/ problematica
L453	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L491	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L539	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L540	20	0	0	20	0	0	20	0	0

Tab. 12 – Attribuzione esiti per laboratorio [SA2]

I grafici 8, 9 e 10 riassumono i risultati ottenuti dai singoli laboratori nell'identificazione degli antigeni somatici, ciliari e identificazione dei sierotipi.

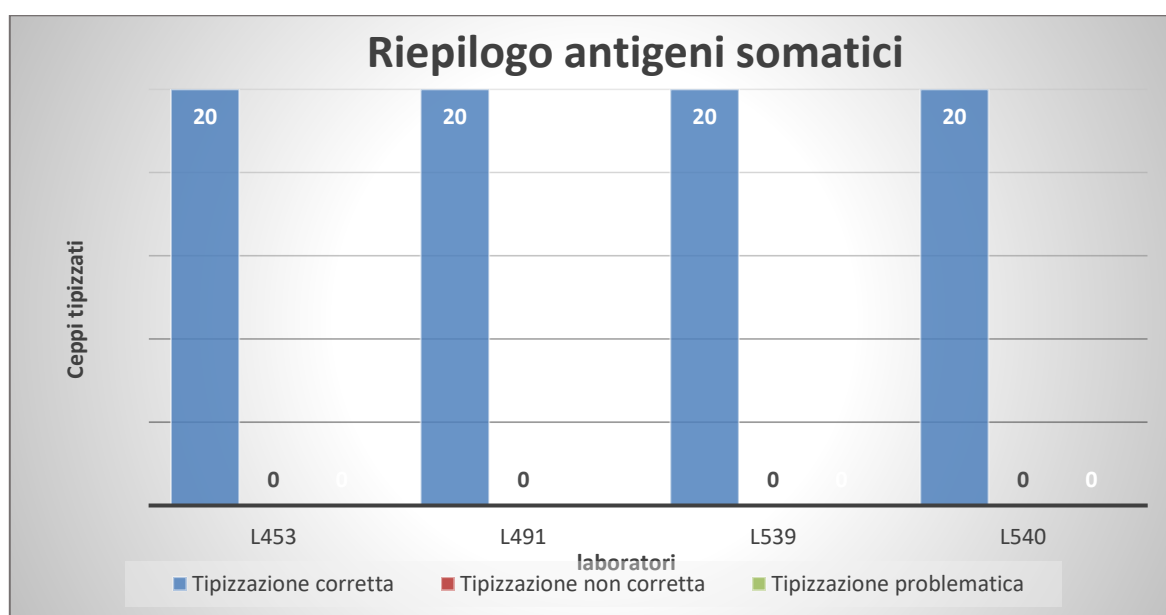


Grafico 8 – Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio [SA2]

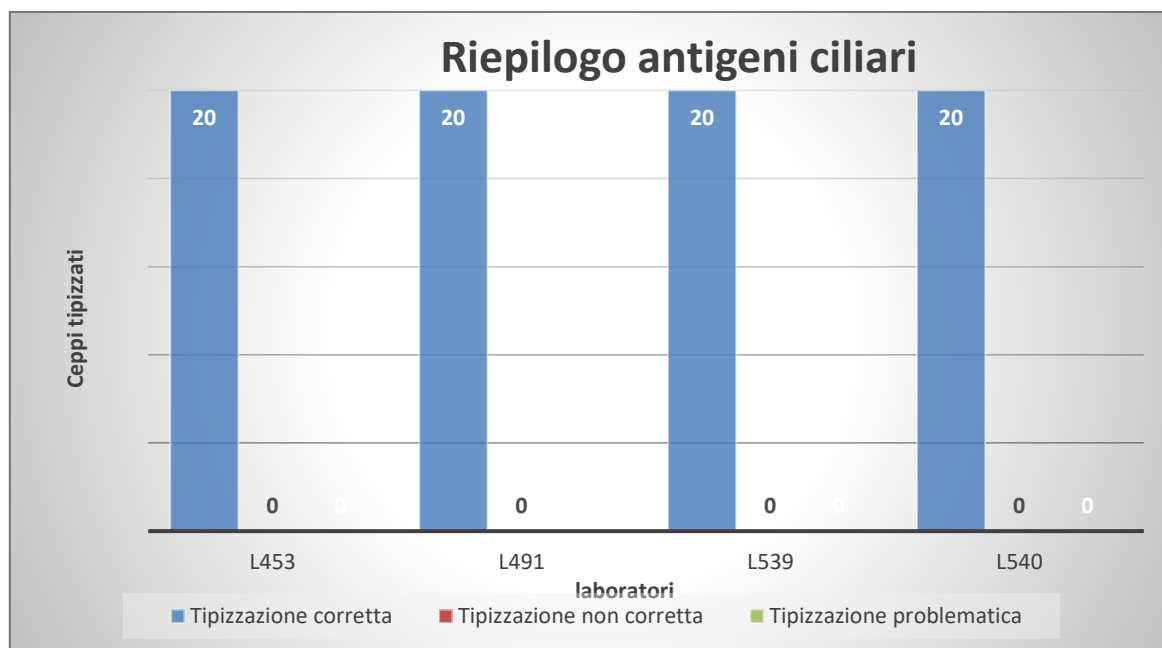


Grafico 9 – Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio [SA2]

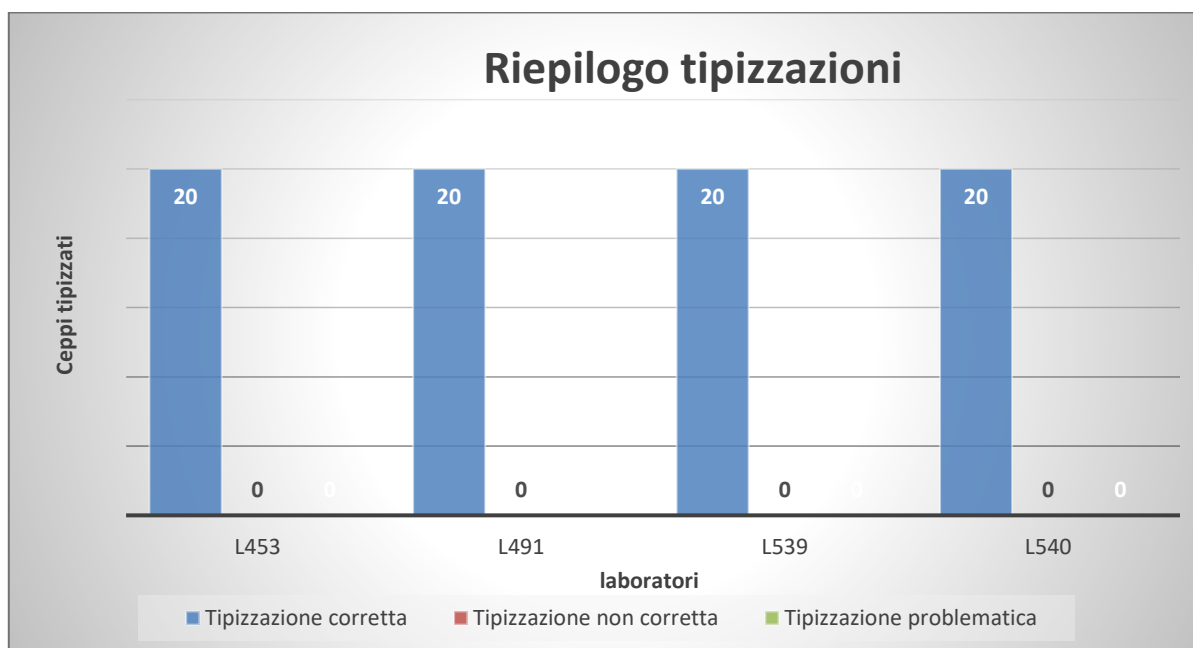


Grafico 10 - Risultati dell'identificazione dei sierotipi per laboratorio

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

	Antigene somatico			Antigeni ciliari			Sierotipizzazione		
	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/probi ematica	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/probi ematica	Tipizzazione corretta	Tipizzazione non corretta	Tipizzazione non completa/probi ematica
S.Enteritidis	4	0	0	4	0	0	4	0	0
S.Enteritidis	4	0	0	4	0	0	4	0	0
S.Typhimurium	4	0	0	4	0	0	4	0	0
VMST	4	0	0	4	0	0	4	0	0
S. Infantis	4	0	0	4	0	0	4	0	0
S. Virchow	4	0	0	4	0	0	4	0	0
VMST	4	0	0	4	0	0	4	0	0
S.Typhimurium	4	0	0	4	0	0	4	0	0
VMST	4	0	0	4	0	0	4	0	0
VMST	4	0	0	4	0	0	4	0	0

Tab. 13 – Risultati del test per ceppo [SA2]

Per ogni laboratorio partecipante è stata calcolata la statistica K di Cohen, che indica il grado di accordo tra i risultati forniti dal singolo laboratorio partecipante ed il valore assegnato che coincide con l'esito atteso definito dall'ente organizzatore del circuito.

E' stato calcolato inoltre il grado di accordo complessivo tra i laboratori partecipanti.

Il valore di K ottenuto per ciascun laboratorio, il valore complessivo e l'interpretazione della statistica con il relativo livello di significatività (p-value) è riportato in tabella 14.

	L453	L491	L539	L540	complessivo
K	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
p-value	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Tab. 14 – 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 15), che fornisce un'indicazione per interpretare la concordanza di un laboratorio con l'esito atteso sulla base del valore K ottenuto, si può concludere che tutti i laboratori hanno ottenuto una concordanza "ottima".

Valutando i dati complessivi la concordanza dell'intero circuito è risultata ottima, pari a 1,0000. Il livello di performance generale è stato ritenuto 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. 15 - Scala di Landis & Koch [SA2]

Nel grafico 11 viene fornita la valutazione in termini di concordanza nel tempo da cui si evince sempre una performance generale soddisfacente.

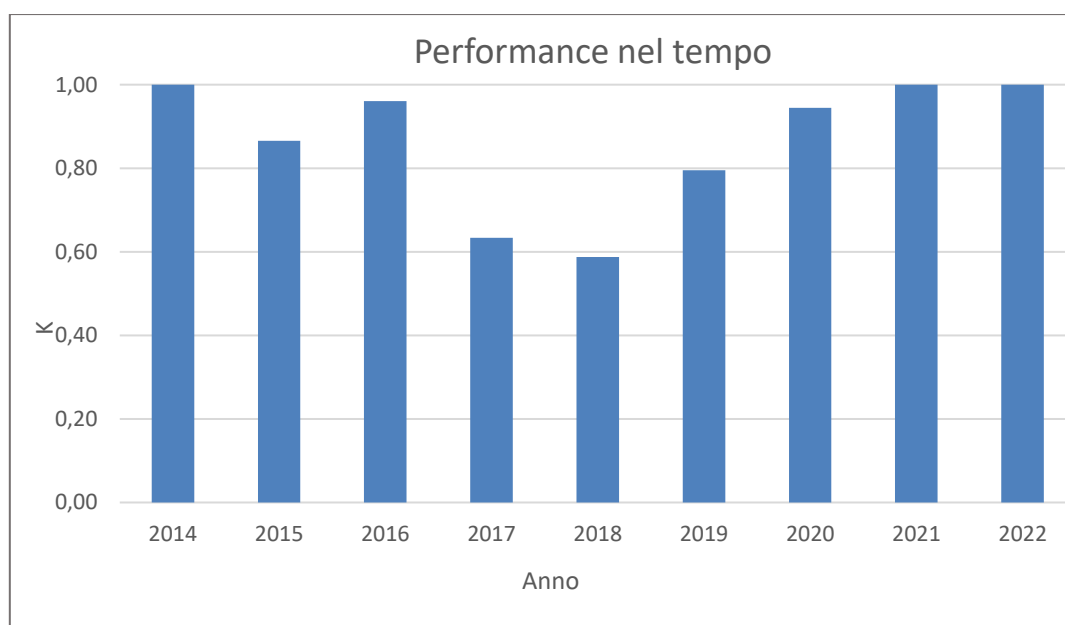


Grafico 11 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo [SA2]

9. COMMENTI GENERALI SA1 E SA2

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 nel triennio 2020 - 2022 (XX 2020 – XXI 2021 – XXII 2022).

Per lo schema SA1, i grafici 12, 13 e 14 mostrano i risultati delle performance nel tempo dell'identificazione degli antigeni somatici, ciliari e delle sierotipizzazioni ottenute in termini di n. identificazioni corrette sui 20 ceppi testati dei laboratori partecipanti.

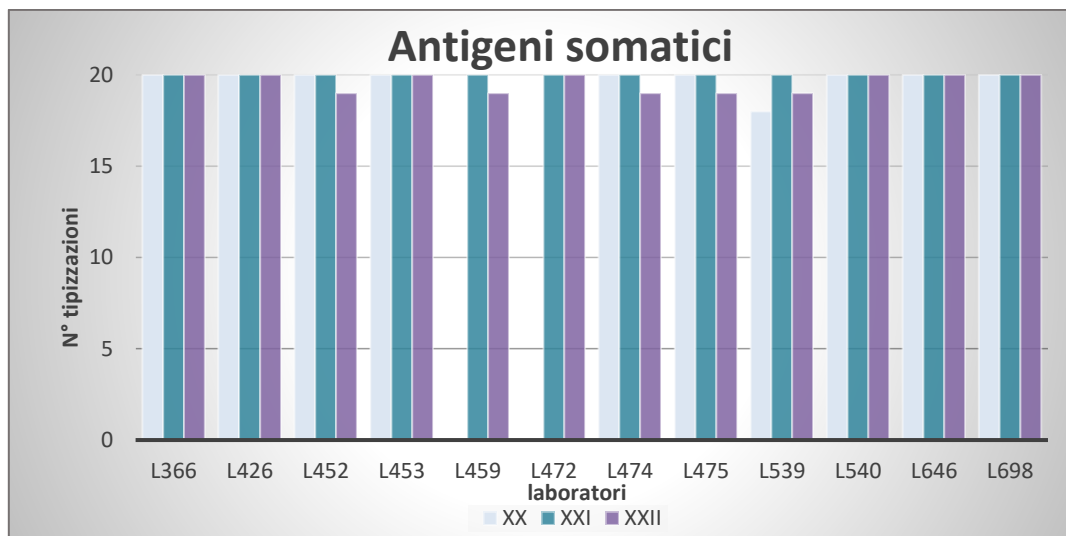


Grafico 12 - Identificazione degli antigeni somatici per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)

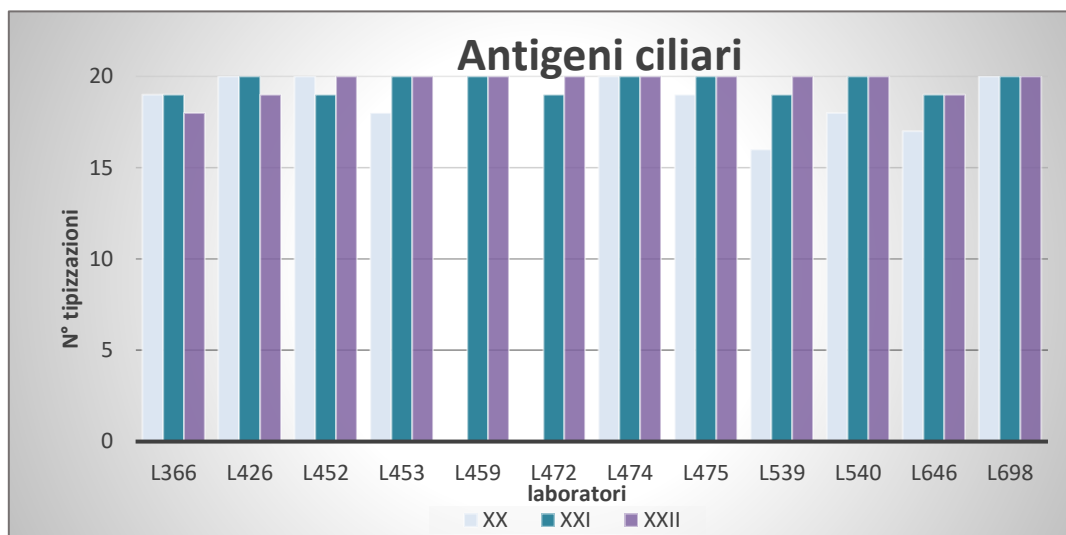


Grafico 13 - Identificazione degli antigeni ciliari per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)

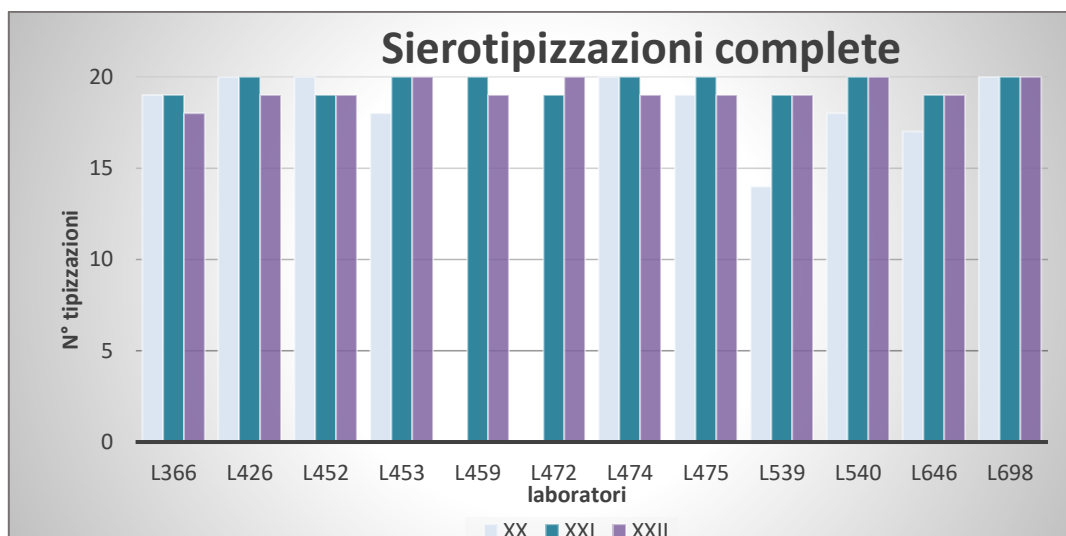


Grafico 14 - Identificazione dei sierotipi per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)

Per lo schema SA2, il grafico 15, 16 e 17 mostrano i risultati delle performance nel tempo dell'identificazione degli antigeni somatici, ciliari e delle sierotipizzazioni ottenute in termini di n. identificazioni corrette sui 10 ceppi testati dei laboratori partecipanti.

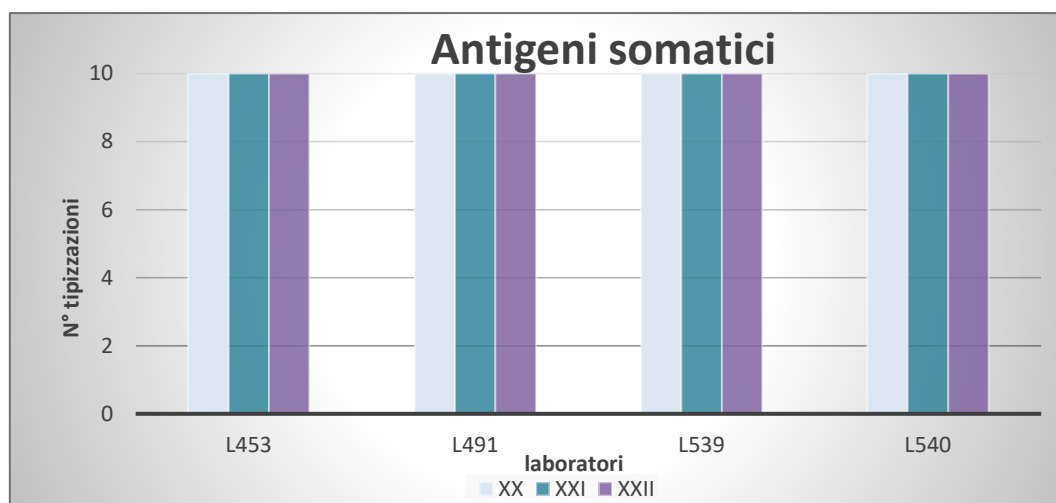


Grafico 15 - Identificazione degli antigeni somatici per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)

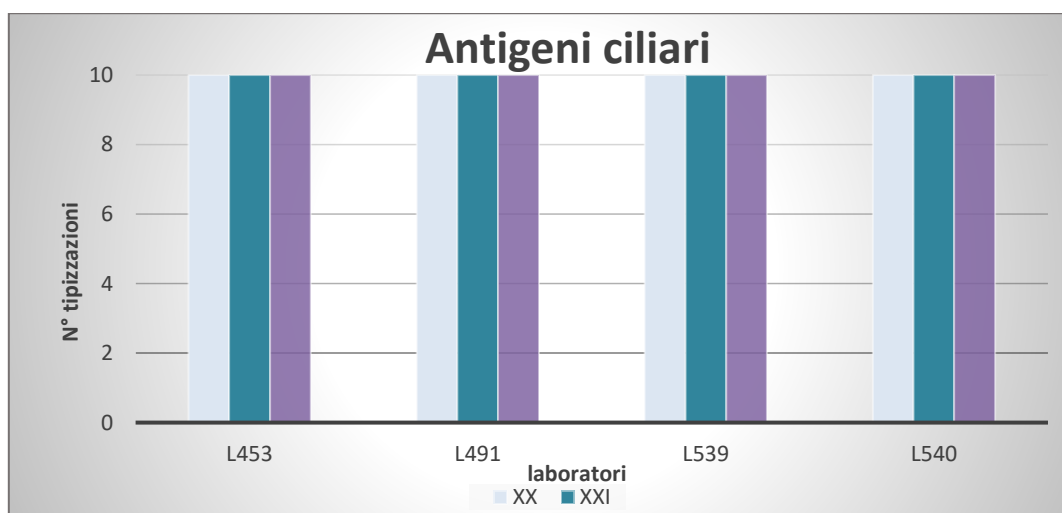


Grafico 16 - Identificazione degli antigeni ciliari per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)

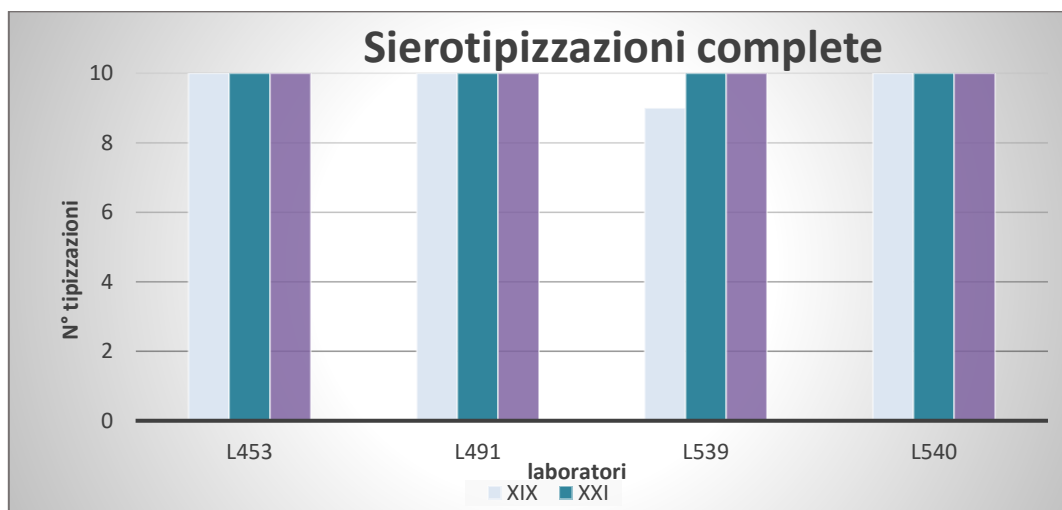


Grafico 17 - Identificazione dei sierotipi per laboratorio nel tempo (2020 – 2022)

10. DISCUSSIONE E RACCOMANDAZIONI FINALI

Relativamente al Circuito SA1, sulla base delle informazioni raccolte dalle schede di inserimento dei risultati, il metodo maggiormente applicato è la procedura di tipizzazione sierologica basata sull'agglutinazione rapida a vetrino. In alcuni casi la sierotipizzazione in agglutinazione è stata associata a una Multiplex PCR e/o alla metodica di sierotipizzazione molecolare.

La maggior parte dei laboratori impiega solo sieri di un unico produttore, ovvero Statens Serum Institut, in altri casi vengono utilizzati sieri Statens Serum Institut in combinazione con Sifin, Remel, Biogenetics, Difco, DID Biogenetics, Pro Lab, BioRad Becton Dickinson, Staten.

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 da EURL-Salmonella, il numero di penalità attribuite ai partecipanti è risultato variabile tra 0 (ottenuto da 4 laboratori) , 1 (ottenuto da 7 laboratori) e 2 (ottenuto da 1 laboratorio).

Tutti i laboratori hanno ottenuto una buona performance e non vi sono penalità per le quali sia necessario un circuito di *follow up*.

In generale le tipizzazioni dei sierotipi rilevanti sono risultate corrette per tutti i laboratori partecipanti. Per i sierotipi selezionati, si sono riscontrati errori di identificazione sia della componente somatica sia della componente ciliare.

Valutando la concordanza complessiva del Circuito SA1 (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 basato su agglutinazione a vetrino, utilizzando sieri prodotti da Statens Serum Institut, in particolare Difco, Remel, Sifin, BioRad Becton Dickinson. In un caso è stata eseguita anche la sierotipizzazione tramite un metodo non sierologico (PO 36 Rev, 7:2021).

Tutti i laboratori partecipanti hanno identificato correttamente i sierotipi, anche per questo schema si registra una ottima performance.

La valutazione complessiva della performance di entrambi gli schemi SA1-SA2 si può ritenere molto soddisfacente.

NOTE

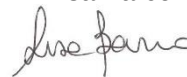
- 1) **I laboratori, al momento dell'iscrizione al circuito interlaboratorio AQUA, sono resi anonimi e identificati solo tramite codici alfa-numeric (L000XXX).** Ai sensi degli artt. 13 e 14 Reg UE 2016/679 si rende la presente informativa privacy.
Titolare del trattamento: ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE 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.
- 2) Tutti gli operatori dell'Organizzazione del circuito interlaboratorio AQUA SA sono tenuti alla riservatezza sia relativamente alla identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

Report definitivo 22/06/2022

Il Responsabile del Circuito Interlaboratorio AQUA SA

Lisa Barco



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

Il presente report è a cura di

Lisa Barco, Giulia Cento, Cristina Saccardin, Marzia Mancin, Paola Pestelli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
OIE/NRL-Salmonella
Microbiologia generale e sperimentale
V.le dell'Università, 10 - 35020 LEGNARO (PD)
www.izsvenezie.it