

ORGANIZZAZIONE DEL PROFICIENCY TESTING AQUA

Isolamento - Identificazione e sierotipizzazione di *Salmonella* spp. (AQUA SA)

1. Obiettivo, campo di applicazione e struttura del PT

L'obiettivo del PT AQUA SA è di offrire uno strumento volto a garantire l'assicurazione della qualità dei risultati e il confronto tra i laboratori partecipanti.

Il PT AQUA SA è organizzato nei seguenti schemi:

- **SA1** - Sierotipizzazione di 20 ceppi di *Salmonella* spp.. Previsto 1 round per anno
- **SA2** - Sierotipizzazione esclusiva degli isolati appartenenti ai sierotipi di *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica di *S. Typhimurium*.. Previsto 1 round per anno
- **SA3** - Isolamento e identificazione di *Salmonella* spp.. Previsti due rounds "a" e "b" per anno
- **SA4**: Isolamento e identificazione di *Salmonella* spp.. Previsto 1 round per anno.

Il calendario di pianificazione degli schemi viene pubblicato nel sito web dell'IZSVe nella pagina dedicata ai PT AQUA nell'ultimo trimestre di ogni anno per l'anno successivo.

Per ogni schema vengono messe a disposizione nell'applicativo web dedicato Aquaweb le modalità operative con indicazioni specifiche in merito alla svolgimento dello schema stesso.

2. Numero e tipologia di partecipanti attesi e requisiti per la partecipazione

Partecipanti attesi:

- **SA1 e SA2**: Laboratori pubblici e privati
- **SA3** (erogato in due rounds "a" e "b"): Laboratori privati. Il numero massimo di partecipanti per round è di 30
- **SA4**: Laboratori della rete degli Istituti Zooprofilattici Sper.li (IIZZSS). Il numero massimo di partecipanti per round è di 30

Qualora il numero complessivo delle iscrizioni superi il limite massimo previsto, i laboratori regolarmente iscritti verranno sottoposti a selezione.

Possono partecipare i laboratori che operano in conformità ai requisiti di biosicurezza previsti per la manipolazione di microrganismi del Gruppo di Rischio 2 secondo la classificazione stabilita dall'All. XLVI del D. Lgs. 09/04/2008, n° 81.

3. Modalità di iscrizione

Le iscrizioni dei nuovi clienti si effettuano mediante registrazione on-line tramite il sito web dell'IZSVe. La registrazione attribuisce al partecipante un codice alfa-numerico univoco e anonimo che consente l'accesso personalizzato (con utente e password) ad Aquaweb. I clienti già registrati devono accedere ad Aquaweb per le successive adesioni.

L'iscrizione agli schemi può essere effettuata a partire dalla data di pubblicazione sul sito web del calendario e sino al termine specificato nello stesso. Iscrizioni tardive saranno accettate a discrezione del Provider, compatibilmente con la disponibilità dei campioni prova e la data prevista di esecuzione dello schema. Con l'iscrizione al PT AQUA il cliente accetta le condizioni generali di contratto pubblicate sul sito web dell'IZSve.

4. Tipologia di campioni prova

- **SA1 e SA2:** ceppi di *Salmonella* spp. con sierotipo noto seminati in terreno di mantenimento (Agar triptoso). Tali ceppi di *Salmonella* spp. sono opportunamente selezionati dalla collezione di materiali di riferimento del Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi.
- **SA3 rounds "a" e "b" e SA4:** matrice fecale di origine animale o matrice ambientale nell'ambito della produzione primaria e materiali di riferimento microbiologici (MRM) di *Salmonella* spp. a concentrazioni note confezionati singolarmente. In fase di esecuzione dello schema, si chiede l'allestimento del campione prova in loco.

5. Spedizione dei campioni prova

I campioni prova vengono confezionati in un contenitore che consente di mantenere la condizione di refrigerazione. La spedizione avviene:

- per i laboratori periferici dell'IZSve tramite trasporto interno.
- per i partecipanti esterni tramite ditta autorizzata al trasporto di materiale biologico.

E' possibile anche il ritiro dei campioni prova a carico del cliente, direttamente presso il Laboratorio Accettazione Centralizzata dell'IZSve.

In caso di perdita o di danneggiamento dei campioni prova, il PTP provvederà, a proprie spese, all'invio di un campione prova sostitutivo.

6. Metodi e misurandi

Il laboratorio partecipante agli schemi del PT di Sierotipizzazione di *Salmonella* spp. (schema SA1) e Identificazione di *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium e variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium (schema SA2) deve eseguire la sierotipizzazione dei campioni di prova utilizzando la metodica in uso presso il proprio laboratorio. I risultati devono essere interpretati secondo lo schema di Kauffmann-White al fine di assegnare, ove applicabile, la formula antigenica e identificare il nome del sierotipo. E' consentito anche l'utilizzo di metodi molecolari normati (ISO 6579-4) e/o alternativi validati secondo norma ISO 16140-6.

Il laboratorio partecipante allo schema del PT di Isolamento e identificazione di *Salmonella* spp. nei campioni della produzione primaria (schema **SA3 rounds "a" e "b"** e schema **SA4**): dovrà 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 norma ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 e/o metodo alternativo validato in accordo alla norma ISO 16140-2, come dettagliato nel Piano stesso).

7. Controlli di qualità (prove di omogeneità e stabilità) eseguiti su ogni lotto di produzione di campioni prova

- **SA1 e SA2:** la verifica dell'omogeneità di ciascun lotto di campioni prova, viene eseguita su *m* provette (almeno 10), che includano almeno un ceppo di ciascuno dei sierotipi considerati rilevanti e altri sierotipi inclusi nello schema del PT in oggetto. L'omogeneità è verificata se le caratteristiche antigeniche osservate per ogni provetta analizzata sono conformi alle caratteristiche attese. La verifica della stabilità del lotto viene effettuata durante il periodo previsto di esecuzione dello schema sulle medesime provette utilizzate in fase di verifica dell'omogeneità. La stabilità è verificata se le caratteristiche antigeniche osservate per ogni provetta analizzata sono conformi alle caratteristiche attese.
- **SA3 rounds "a" e "b" e SA4:** il campione prova è costituito da materiale di riferimento (MR) e matrice ed è testato per omogeneità e stabilità che sono valutate verificando la concordanza/discordanza tra l'esito osservato e l'atteso. L'omogeneità è verificata su *g* (almeno 10 flaconcini) di MRM, la stabilità è verificata analizzando una delle distribuzioni inviate. Una parte è analizzata il primo giorno previsto per l'esecuzione dello schema del PT i rimanenti campioni prova sono analizzati l'ultimo giorno del suddetto

periodo. La tipologia di campioni esaminati per la verifica della stabilità tiene conto della tipologia di invio ai partecipanti.

8. Invio dei risultati da parte del partecipante

Il partecipante invia i risultati inserendoli in Aquaweb. Le modalità e le tempistiche relative all'invio dei risultati di ciascuno schema del PT, sono definite nelle specifiche modalità operative pubblicate in Aquaweb.

9. Metodi statistici e criteri di valutazione utilizzati per l'elaborazione dei risultati dei partecipanti

Il valore assegnato coincide con il valore atteso che è definito dal Provider dello schema del PT in quanto derivante dalla conoscenza della preparazione dei campioni prova da analizzare e/o dall'utilizzo di materiale di riferimento.

La valutazione dei risultati si basa sulla verifica della concordanza/discordanza dei risultati ottenuti da ciascun laboratorio rispetto al risultato atteso.

L'obiettivo degli schemi di sierotipizzazione **SA1 e SA2** è di valutare la capacità di identificare il sierotipo di *Salmonella* spp. o i sierotipi *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, inclusa la variante monofasica di *S. Typhimurium*.

Per valutare la performance di ciascun partecipante si utilizzano i criteri di attribuzione di punti di penalità alle identificazioni non corrette. Tali criteri sono stati proposti dal Centro di Referenza Comunitario per *Salmonella* (CRL-Salmonella) di Bilthoven, NL nel contesto della stessa tipologia di PT che organizza per i Centri di Referenza Nazionali per le Salmonellosi.

In particolare, sono attribuiti punti di penalità ai 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* e *S. Virchow*) da quelli appartenenti a sierotipi diversi.

I risultati inviati vengono inoltre elaborati statisticamente al fine di stimare il grado di concordanza/discordanza, attraverso la statistica K di Cohen, tra l'esito di sierotipizzazione inviato da ogni laboratorio (indicato nell'esempio come Laboratorio A) e il risultato atteso dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (Laboratorio B), considerato Gold Standard in quanto Provider del PT.

Per l'interpretazione del grado di accordo si utilizza la scala di Landis & Koch:

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

L'obiettivo degli schemi di Isolamento e identificazione **SA3 rounds a | b e SA4** è di testare la capacità di ciascun laboratorio partecipante di identificare correttamente la presenza/assenza (rilevato/non rilevato) di *Salmonella* spp. nei campioni di prova.

Sono stabiliti dei criteri minimi di accettabilità che il Provider si riserva di poter modificare sulla base del livello di difficoltà di volta in volta definito.

10. Emissione report

Entro due settimane dalla data ultima indicata per l'inserimento dei risultati viene pubblicato in Aquaweb un report preliminare che riporta il valore atteso.

Schemi SA1 e SA2: il report preliminare riporta l'esito atteso con le seguenti informazioni:

- l'identificazione numerica del campione di prova (ceppo n°..);
- gli antigeni somatici;
- gli antigeni ciliari;
- nome del sierotipo.

Schemi SA3 rounds “a” e “b” e SA4: il report preliminare riporta l'esito atteso in termini di rilevato/non rilevato per ogni campione prova delle distribuzioni somministrate.

Contestualmente alla emissione del report preliminare a ciascun laboratorio è comunicato il numero della distribuzione assegnata.

Entro due mesi dalla data ultima indicata per l'inserimento dei risultati viene pubblicato in Aquaweb e nel sito web dell'IZSve il report definitivo che contiene:

- materiali e metodi
- risultati dei partecipanti;
- elaborazione e valutazione performance (espressi con tabelle e grafici);
- obiettivi del PT;
- composizione dei campioni inviati, metodiche utilizzate per la loro preparazione e controllo dei campioni prova;
- valutazione dell'omogeneità e della stabilità in termini di concordanza con il risultato atteso. I singoli risultati delle prove effettuate sono disponibili, su richiesta, presso il Provider;
- Commenti e raccomandazioni basati sui risultati del PT.

I risultati trasmessi dai laboratori sono resi anonimi tramite codici identificativi numerici attribuiti ai laboratori al momento della pubblicazione del report preliminare.

In caso di performance non conformi, il partecipante può richiedere al provider l'invio di nuovi campioni prova (residui del round o nuovi campioni) entro 2 mesi dalla data di emissione del report finale.

Nel caso in cui uno schema venga distribuito e alcune prove si dimostrino successivamente non adatte per la valutazione della performance, lo stesso viene annullato e ne viene data comunicazione ai partecipanti tramite email da parte del responsabile dello schema del PT e successiva descrizione nel report finale.

Tutti i documenti di registrazione inerenti il PT vengono conservati per 10 anni, salvo diverse disposizioni di legge, nel qual caso prevalgono queste ultime.

11. Comunicazione con i partecipanti

I partecipanti possono comunicare con il Provider del PT in qualsiasi momento tramite e-mail o telefonicamente, anche nel caso di perdita o di danneggiamento dei campioni prova.

Eventuali cambiamenti nel programma o nelle operazioni dello schema vengono comunicate tempestivamente.

I partecipanti possono appellarsi relativamente alla valutazione della loro performance entro 2 mesi dalla pubblicazione del report finale.

Sono auspicabili informazioni di ritorno da parte dei partecipanti, al fine di migliorare costantemente il servizio.

In ogni schema AQUA SA, alla pubblicazione del report finale viene aperta la sezione: “CUSTOMER SATISFACTION” dove il partecipante può valutare lo schema in oggetto, cliccando sullo smile di colore verde, giallo o rosso. Il partecipante può lasciare anche le sue osservazioni e/o suggerimenti, in particolare se è stato selezionato lo smile giallo o rosso.

I dati di customer satisfaction raccolti sono trattati ed utilizzati dall'IZSve, Provider del PT AQUA, nel rispetto della riservatezza e della privacy, secondo quanto previsto dal Regolamento (UE) 2016/679, allo scopo di migliorare continuamente il servizio offerto. I dati di customer satisfaction inviati non sono anonimi allo scopo di poter dialogare direttamente con i laboratori, in base ai commenti, suggerimenti o critiche espressi nel campo testuale della sezione, relativa ad ogni schema AQUA SA.

Entro due mesi dalla data di emissione del report finale, i dati di customer satisfaction raccolti vengono valutati, per poter operare tempestivamente azioni correttive e/o di miglioramento.

Le valutazioni degli schemi possono peraltro essere inserite anche dopo tale termine. In questo caso la valutazione dei dati di customer satisfaction avviene in fase di riesame annuale della Direzione.