



Circuito interlaboratorio
per l'assicurazione qualità
dei risultati

Circuito interlaboratorio di isolamento e identificazione *Salmonella* spp. da campioni prelevati a livello di produzione primaria

Report definitivo Schema AQUA

SA 3a-24 (laboratori privati)

Anno erogazione 2024

Responsabile Circuito *Responsabile Circuito Interlaboratorio AQUA SA*

Dott.ssa Lisa Barco

Tel. 049 808 4137

e-mail crns.circuiti@izsvenezie.it

Responsabile tecnico

Dott.ssa Cristina Saccardin

Tel. 049 808 4283

e-mail crns.circuiti@izsvenezie.it

Responsabile statistico

Dott.ssa Marzia Mancin

Tel. 049 808 4431

e-mail mmancin@izsvenezie.it

Segreteria

Dott.ssa Paola Pestelli

Tel. 049 808 4137

e-mail crns.circuiti@izsvenezie.it

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

IZSVe – Centro di Referenza Nazionale per le salmonellosi

Report definitivo emesso il 29/07/24



Report definitivo

Sommario

Sommario	3
Introduzione	4
Laboratori partecipanti	4
1. Caratteristiche, composizione e controllo campioni	5
2. Invio, istruzioni e modalità operative	6
3. Valori assegnati	7
4. Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance	10
5. Risultati	11
6. Conclusioni	14
Privacy	15

IZSVe – Centro di Referenza Nazionale per le salmonellosi

Report definitivo emesso il 29/07/24

Introduzione

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.

Laboratori partecipanti

Al presente circuito, hanno preso parte n. 13 laboratori a cui, una volta inseriti gli esiti, viene attribuito dal portale Aquaweb un codice numerico identificativo.

1. Caratteristiche, composizione e controllo campioni

La metodica di riferimento da impiegarsi nel presente circuito di isolamento di *Salmonella* spp. è quella riportata nella UNI EN ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 o altro metodo alternativo utilizzato presso il laboratorio, purché validato in accordo al protocollo UNI EN ISO 16140_2 rispetto al suddetto metodo di riferimento.

1.1 Composizione dei campioni prova

1.1.1 Materiale di Riferimento

Per l'esecuzione del circuito è stato utilizzato materiale di riferimento microbiologico (MRM) liofilizzato negativo e MRM liofilizzato positivo. I MRM sono prodotti dal laboratorio IZSve AQUA MA.

Il MRM negativo (lotto G-23) non contiene alcun microrganismo.

Il MRM positivo (lotto C-23) è costituito da *Salmonella* Agbeni e latte, utilizzato come crioprotettore (latte scremato UHT senza grassi); il range di valore medio è compreso tra 48 – 60 CFU/ml.

Il MRM destinato a ogni laboratorio partecipante è stato preparato secondo le istruzioni descritte nelle modalità operative disponibili nel portale Aquaweb, ed ogni flaconcino è stato siglato da A1 ad A7 e da C1 a C2.

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

– 5 flaconcini di sierotipo di *Salmonella* Agbeni, 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 flaconcini “bianchi” non contenenti *Salmonella* Agbeni, di cui 3 da aggiungere ai campioni di feci di origine animale negativi per *Salmonella* spp. ed uno per allestire il controllo denominato C2 (in assenza di matrice).

Ai laboratori esecutori è stata data indicazione di allestire in autonomia i controlli di processo rispettivamente: C3 “controllo matrice”, da allestire con la matrice feci e APTS (senza aggiunta di MRM) ed il controllo C4 con solo APTS in assenza di matrice feci (senza aggiunta di MRM).

1.1.2 Matrice

Ai laboratori partecipanti sono state inviate aliquote di circa 200 g di feci di pollo negative per *Salmonella* spp.

In questa edizione è stato utilizzato il lotto di matrice utilizzata per gli schemi AQUA SA del 2023, conservato in sacchetti sigillati mantenuti a temperatura di congelamento ($\leq -18^{\circ}\text{C}$). La negatività

del lotto è stata nuovamente testata su 10 aliquote da 25 g secondo la metodica di riferimento, UNI EN ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 confermando l'assenza di *Salmonella* spp.

Contestualmente alla prova di stabilità, una aliquota della matrice dello stock congelato è stata testata nuovamente per la quantificazione della Carica Mesofila Totale (procedura UNI EN ISO 4833-2) e degli Enterobatteri (procedura UNI EN ISO 21528-2). I risultati delle analisi eseguite tra il 20 al 23 maggio sono i seguenti: $1,5 \times 10^9$ ufc/g per Carica Mesofila Totale e $2,2 \times 10^6$ ufc/g per Enterobacteriaceae.

1.2 Prove di omogeneità e stabilità

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.

2. Invio, istruzioni e modalità operative

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

Scadenze	Attività
Entro il 28/02/2024	Scadenza iscrizioni Aquaweb
Entro il 06/04/2024	Pubblicazione pianificazione e protocollo delle modalità operative.
Dal 06/05/2024 Al 10/05/2024	Spedizione del materiale ai laboratori coinvolti tramite corriere.
Dal 20/05/2024 Al 24/05/2024	Esecuzione del circuito
Entro il 31/05/2024	Inserimento dei risultati nella scheda di inserimento risultati presente in AQUAWEB.
Entro il 06/04/2024	Pubblicazione Report Parziale in Aquaweb con indicazione del risultato atteso.

Tab. 1 – Calendario attività.

Il materiale per l'esecuzione dello schema, è stato inviato secondo la classificazione BIOL.SUB.CAT.B UN 3373, richiedendo il mantenimento alla temperatura di refrigerazione.

IZSVe – Centro di Referenza Nazionale per le salmonellosi

Report definitivo emesso il 29/07/24

Il materiale è stato consegnato ai partecipanti nella settimana dal 06/05/2024 come previsto.

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

Il valore assegnato coincide con l'esito 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.

A ciascun laboratorio partecipante sono stati resi disponibili nel gestionale AQUAWEB, anticipatamente rispetto all'esecuzione delle analisi, la pianificazione e il protocollo operativo 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	Liofilo	FECI - 25g
A1 -> 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.

I campioni prova (siglati da A1 ad A7) e i controlli (siglati da C1 a C2) sono stati inviati ai laboratori secondo n. 3 distribuzioni, in ognuna delle quali rimane invariato il rapporto positivi /negativi ma varia la sequenza.

3. Valori assegnati

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 riportato nel Report Parziale, redatto in data 13/06/2024.

Nel Report Parziale sono stati riportati i risultati attesi per ciascuna delle 3 distribuzioni. Contestualmente alla pubblicazione tramite Aquaweb, ogni laboratorio partecipante ha ricevuto comunicazione della distribuzione di riferimento.

Sono stati definiti i seguenti criteri di accettabilità per la valutazione della performance dei laboratori:

- Controllo in assenza di matrice “C1-C2-C4”: accettabile 0 errori.
- Controllo in presenza di matrice “C3”: accettabile 1 errore.
- Campione negativo in presenza di matrice: accettabile 1 errore.
- Campione positivo in presenza di matrice: accettabile 1 errore.

3.1 Analisi dei dati

Specificità, sensibilità e accuratezza ottenute complessivamente dai laboratori partecipanti sono state calcolate come indicato di seguito.

$$\text{Specificità: } \frac{\text{Numero di risultati negativi}}{\text{Numero totale di campioni realmente negativi}} \times 100\%$$

$$\text{Sensibilità: } \frac{\text{Numero di risultati positivi}}{\text{Numero totale di campioni realmente positivi}} \times 100\%$$

$$\text{Accuratezza: } \frac{\text{Numero di risultati corretti (positivi e negativi)}}{\text{Numero totale di campioni (positivi e negativi)}} \times 100\%$$

Sono state inoltre sottoposte a verifica le informazioni trasmesse dai partecipanti, al fine di evidenziare eventuali anomalie nell'esecuzione del protocollo.

3.2 Criteri per la definizione di “buona performance”

Nelle tabelle seguenti sono riportati i criteri stabiliti dal CRNS per la definizione della buona performance dei laboratori partecipanti al presente circuito.

In Tabella 3 e 4 sono indicati i risultati minimi, in termini di risultati corretti, per quanto riguarda i campioni contaminati rispettivamente con MR del sierotipo S.Agbeni e con MR negativo non contenente alcun microrganismo (bianco).

IZSVe – Centro di Referenza Nazionale per le salmonellosi

Report definitivo emesso il 29/07/24

In tabella 5 sono descritti i limiti di accettabilità per i CONTROLLI, in termini di risultati errati è considerato accettabile un numero di errori pari a 1 per i campioni contaminati con il MR Negativo, poiché non può esserci la totale garanzia di negatività per l'analita in tutti i pool di feci inviati ai laboratori; Per quanto riguarda il controllo C1 con **MR S. Agbeni** si è applicata una tolleranza pari a 0.

	Risultati minimi	
CAMPIONI	% positivi	N° test corretti/ N° totale di campioni
MRM S. Agbeni	75%	3/4

Tab. 3 - Criteri di conformità per campioni artificialmente contaminati MR con un livello noto di *Salmonella* spp.(sierotipo).

	Risultati minimi	
CAMPIONI	% positivi	N° test corretti/ N° totale di campioni
MRM negativo	~66%	2/3

Tab. 4 - Criteri di conformità per campioni artificialmente contaminati con MR non contenente alcun microrganismo.

	Limiti di accettabilità	
CONTROLLI	% positivi	N° test corretti N° totale di controlli
MRM negativo	~33%**	1/3*
MRM S. Agbeni	100%	1/1

Tab. 5 - Criteri di conformità per campioni e controlli.

*sono considerati sia il controllo C2 (MRM negativo) che i controlli C3 (feci+APTS) e C4 (APTS).

** la tolleranza sulla positività è limitata al solo controllo feci-APTS (C3)

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

I dati tecnici sono stati riportati da 12 laboratori che hanno inviato la scheda di inserimento dei risultati, sul totale di 13 partecipazioni. Un laboratorio non ha inserito gli esiti entro il periodo temporale definito.

Per quanto riguarda il metodo utilizzato, laboratori hanno utilizzato quasi esclusivamente il metodo UNI EN ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020, tranne un laboratorio che ha impiegato anche il metodo alternativo AFNOR BRD 07/06 – 07/04.

I laboratori hanno ricevuto i campioni nell'arco temporale tra il 06/05/2024 e il 10/05/2024, come indicato nella seguente linea del tempo. Una volta ricevuti, hanno provveduto alla conservazione alle condizioni di refrigerazione. Tutti i laboratori hanno rapidamente posto il materiale alla temperatura di conservazione indicata.

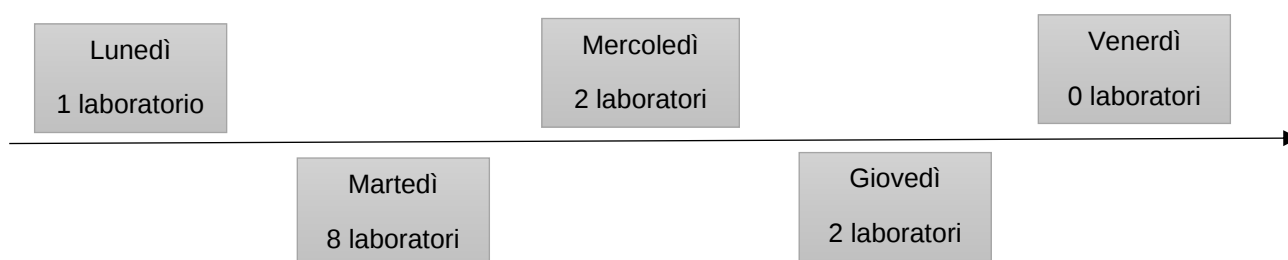


Fig. 1 – ricezione campioni durante la settimana dal 6 al 10 maggio 2024.

5. Risultati

5.1 Commenti e valutazioni dati tecnici

Tutti i laboratori hanno riportato le prove biochimiche utilizzate, ad eccezione del laboratorio con codice ID 7 che non ha riportato nessun dato di conferma. I test biochimici riportati sono sistemi in macrometodo e miniaturizzati API 20 E, MICROBACT 12 A, KIT MICROGEN GN-A, "ENTEROPLURITEST" e "ENTEROSYSTEM 18R", MALDI TOF.

Per quanto riguarda la prova di conferma sierologica, i laboratori ID 2,4,7 non hanno riportato le prove di conferma degli antigeni O,H,Vi. Si sottolinea che la conferma sierologica al pari della conferma biochimica sono fasi complementari non prescindibili a fronte di una corretta applicazione della procedura di isolamento previste dalla norma di riferimento.

5.2 Sintesi dei risultati

Valutazione Controlli da C1 a C4

I controlli da C1 a C3, 1 sono stati correttamente identificati da 11 laboratori su 12. Un laboratorio (ID 12) non ha identificato il controllo C1.

Valutazione Campioni artificialmente contaminati da A1 ad A7

Per la distribuzione 1, un laboratorio ID 12 non ha identificato correttamente 4 campioni artificialmente contaminati. In particolare, non ha rilevato la presenza di Salmonella in 3 campioni contaminati A2, A3, A5, e ha rilevato la presenza di Salmonella in un campione non contaminato A7. Tale risultato è considerato NON soddisfacente.

Per le distribuzioni 2 e 3 tutti i laboratori hanno identificato correttamente tutti i campioni artificialmente contaminati.

Si riportano le tabelle riepilogative dei risultati ottenuti.

Distribuzione 1

Campione	Esito Atteso	ID 4	ID 5	ID 7	ID 8	ID 12
A1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A2	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	non-rilevato
A3	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	non-rilevato
A4	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A5	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	non-rilevato
A6	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A7	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	rilevato
C1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
C2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	rilevato
C3	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C4	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato

Distribuzione 2

Campione	Esito Atteso	ID 10	ID 13	ID 11	ID 9
A1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A3	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A4	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A5	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A6	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A7	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
C1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
C2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C3	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C4	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato

Distribuzione 3

Campione	Esito Atteso	ID 6	ID 2	ID 3
A1	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A2	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A3	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A4	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A5	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A6	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A7	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
C2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C3	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C4	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato

5.3 Valutazione della performance dei laboratori partecipanti

In tabella 6 viene riportato l'elenco dei laboratori e relativo soddisfacimento dei criteri di accettabilità della performance.

ID	Distribuzione	Conformità ai criteri definiti per i controlli	Conformità ai criteri definiti per i campioni positivi	Conformità ai criteri definiti per i campioni negativi
2	3	OK	OK	OK
3	3	OK	OK	OK
4	1	OK	OK	OK
5	1	OK	OK	OK
6	3	OK	OK	OK
7	1	OK	OK	OK
8	1	OK	OK	OK
9	2	OK	OK	OK
10	2	OK	OK	OK
11	2	OK	OK	OK
12	1	NO	NO	NO
13	2	OK	OK	OK

Tab. 6 - Tabella riassuntiva delle distribuzioni e della valutazione della performance sulla base dei criteri di accettabilità.

6. Conclusioni

Dei 13 laboratori iscritti al circuito SA 3a-24, per un laboratorio non è stata possibile la valutazione poiché non ha inserito i risultati nei termini definiti.

Per i rimanenti 12 laboratori partecipanti, 11 hanno soddisfatto i criteri minimi previsti, ottenendo performance soddisfacente.

Il laboratorio (ID 12) non ha soddisfatto i criteri minimi di accettabilità, avendo ottenuto risultato non conforme per 4 campioni artificialmente contaminati e per un controllo in assenza di matrice.

La performance è quindi da ritenersi NON soddisfacente.

Il laboratorio che non ha ottenuto risultati soddisfacenti sarà contattato individualmente ed informato su modalità e tempi relativi ai controlli di follow-up.

Le attività di Follow-up sono gestite direttamente tra l'organizzatore e il laboratorio partecipante tramite comunicazioni via e-mail utilizzando la casella di posta dedicata CRNS.circuiti@izsvenezie.it.

I risultati del circuito (Report definitivo), 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. L'aggiornamento sarà applicato ai laboratori che hanno ottenuto risultati soddisfacenti; per quanto riguarda i laboratori che hanno ottenuto risultati non soddisfacenti la valutazione della performance sarà subordinata all'esito del circuito di follow-up.

Il risultato conseguito nel presente circuito rimane valido fino al 31 dicembre 2027.

Privacy

I laboratori, al momento dell'iscrizione al circuito interlaboratorio AQUA, sono resi anonimi e identificati solo tramite codici alfa-numeric (L000XXX). Nel report definitivo AQUA SA, ad ogni laboratorio viene assegnato in modo casuale un codice identificativo numerico specifico per ogni report.

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 dirgen@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.

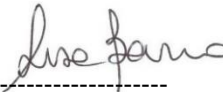
Tipologia di dati e fonti: dati comuni, anagrafici e identificativi. Proverranno tutti dall'Interessato. Finalità e modalità: i dati saranno trattati per l'adempimento di obblighi legali connessi all'iscrizione / adesione al circuito AQUA; il trattamento avverrà in modo sia manuale/cartaceo, che elettronico. 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.

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, 29/07/2024

Responsabile del Circuito Interlaboratorio AQUA SA

Dott.ssa Lisa Barco



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

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Centro di Riferenza Nazionale per le Salmonellosi
V.le dell'Università 10 – 35020 LEGNARO (PD)
www.izsvenezie.it

IZSve – Centro di Riferenza Nazionale per le salmonellosi

Report definitivo emesso il 29/07/24