



PROFICIENCY TESTING AQUA SA

Isolamento e Identificazione *Salmonella* spp. da campioni prelevati a livello di produzione primaria

Report	Finale
Schema	AQUA SA 3
Anno di erogazione	2025
Round	b
Periodo di esecuzione	Dal 15/09/2025 al 19/09/2025
Data emissione	26/11/2025
ID report	AQSA3b-25F

ORGANIZZATORE	Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi V.le dell'Università 10 – 35020 LEGNARO (PD) www.izsvenezie.it
RESPONSABILE PT	Lisa Barco Tel. 049 808 4137 e-mail crns.circuiti@izsvenezie.it
RESPONSABILE TECNICO	Cristina Saccardin Tel. 049 808 4283 - 4137 e-mail crns.circuiti@izsvenezie.it
RESPONSABILE STATISTICO	Marzia Mancin Tel. 049 808 4431 e-mail mmancin@izsvenezie.it
SEGRETERIA	Paola Pestelli Tel. 049 808 4137 e-mail crns.circuiti@izsvenezie.it

Riservatezza

Ad ogni laboratorio partecipante viene attribuito in modo casuale un codice numerico specifico per lo schema del Report.

Tutti gli operatori del CRNS sono tenuti alla riservatezza sia relativamente alla identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

Layout report: IZS MOD 501 SA – rev. 04 – 05/25 - Report AQUA SA

Sommario

Introduzione	4
Laboratori partecipanti	4
1. Materiali e Metodi.....	5
1.1 Metodi	5
1.2 Composizione dei campioni prova.....	5
1.2.1 Materiale di Riferimento (MRM)	5
1.2.2 Matrice.....	5
1.3 Prove di omogeneità e stabilità	5
2. Invio e modalità operative	6
2.1 Invio	6
2.2 Modalità Operative	6
3. Valori assegnati	7
4. Criteri di accettabilità.....	7
5. Analisi dei risultati	7
5.1 Commenti e valutazioni dati tecnici	7
5.2 Sintesi dei risultati	8
5.3 Valutazione della performance dei laboratori partecipanti	10
6. Conclusioni	10

Abbreviazioni

CRNS	Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi
PT	Proficiency Testing
MRM	Materiale di Riferimento Microbiologico
SE	S. Enteritidis
ST	S. Typhimurium
VMST	Variante Monofasica di S. Typhimurium
PNCS	Piano Nazionale Controllo Salmonellosi
STIP	Sierotipizzazione

Introduzione

Il PT AQUA SA 3b è organizzato dal Centro di Riferenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) allo scopo di valutare le capacità dei partecipanti di identificare *Salmonella* spp. in campioni di origine animale della produzione primaria.

Le attività pianificate, sono state svolte secondo la tempistica (vedi tabella 1) indicata nelle Modalità Operative pubblicate in AQUAWEB.

Scadenze	Attività
Entro il 30/06/2025	Scadenza iscrizioni AQUAWEB
Entro il 01/08/2025	Pubblicazione pianificazione e protocollo delle Modalità Operative
Dal 01/09/2025 Al 05/09/2025	Spedizione del materiale ai laboratori tramite corriere
Dal 15/09/2025 Al 19/09/2025	Esecuzione del PT
Entro il 26/09/2025	Inserimento dei risultati nella scheda di inserimento risultati presente in AQUAWEB
Entro il 10/10/2025	Pubblicazione Report Preliminare in AQUAWEB con indicazione del risultato atteso

Tab. 1 – Calendario attività.

Laboratori partecipanti

Al presente PT si sono iscritti n.12 laboratori.

Ad ogni laboratorio, una volta inseriti gli esiti, viene attribuito un codice numerico identificativo casuale (ID).

1. Materiali e Metodi

1.1 Metodi

La metodica di riferimento da impiegarsi nel presente PT 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.

1.2 Composizione dei campioni prova

1.2.1 Materiale di Riferimento (MRM)

Per l'esecuzione del PT è stato utilizzato MRM liofilizzato negativo e MRM liofilizzato positivo. I MRM sono prodotti dal laboratorio IZSVE AQUA MA.

Il MRM negativo (lotto G24) non contiene alcun microrganismo.

Il MRM positivo (lotto A24) è costituito da *Salmonella* Agbeni e latte, utilizzato come crioprotettore (latte scremato UHT senza grassi); il range di valore medio è compreso tra 140–330 CFU/inoculo.

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 a A7 e da C1 a C2.

Ad ogni laboratorio è stato inviato il seguente MRM:

- 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 (senza aggiunta di MRM) ed il controllo C4 con solo APTS in assenza di matrice feci (senza aggiunta di MRM).

1.2.2 Matrice

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

1.3 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.

Tre aliquote della matrice dello stock congelato sono state testate per la quantificazione delle Carica Mesofila Totale (procedura UNI EN ISO 4833-2) ed *Enterobacteriaceae* (procedura UNI EN ISO 21528-2).

I risultati delle analisi eseguite tra il 28/07/2025 e il 01/08/25 sono i seguenti:

- Carica Mesofila Totale 6.9×10^8 ufc/g
- *Enterobacteriaceae* 2.3×10^5 ufc/g

Il livello di inoculo del MRM lotto C24, da utilizzare per allestire i campioni prova è stato definito tenendo in considerazione i valori di carica microbica Mesofila e *Enterobacteriaceae* presenti nella matrice.

La stabilità dei campioni prova è stata verificata simulando eventuali condizioni non ottimali di trasporto mantenendo i campioni prova a temperatura ambiente durante l'intero periodo di invio dei campioni da parte

del CNRS ai laboratorio esecutori (5 giorni lavorativi). Al termine di tale periodo (5^a giorno) il materiale è stato refrigerato procedendo all'inizio analisi secondo le tempistiche previste dalle istruzioni dello schema.

2. Invio e modalità operative

2.1 Invio

Il materiale per l'esecuzione dello schema è stato spedito secondo la classificazione BIOL.SUB.CAT.B UN 3373, a temperatura di refrigerazione.

I laboratori partecipanti non hanno segnalato anomalie al momento della ricezione del materiale che è stato conservato alle condizioni di refrigerazione.

I laboratori hanno stoccato i campioni prova nell'arco temporale tra il 02/09/2025 e il 09/09/2025, come indicato nella seguente linea del tempo.

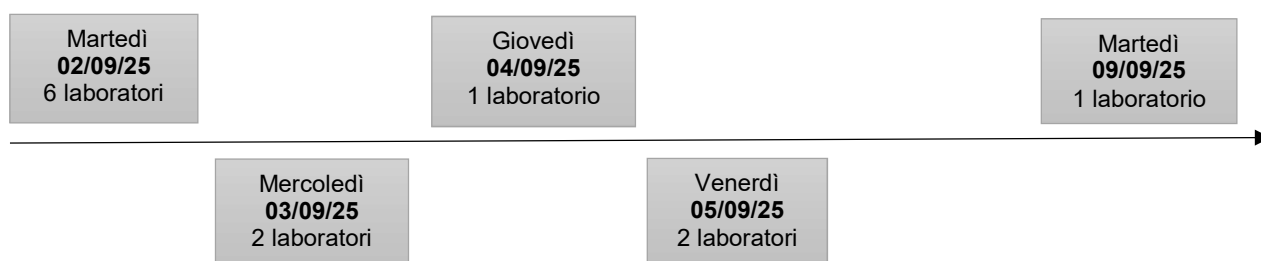


Fig. 1 – Ricezione campioni durante la settimana d'invio.

2.2 Modalità Operative

Le Modalità Operative, pubblicate nel gestionale AQUAWEB anticipatamente rispetto all'esecuzione del PT, descrivono la pianificazione, il protocollo operativo e le indicazioni 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 i campioni prova (7 campioni siglati da A1 ad A7 e 4 controlli siglati da C1 a C4) sono stati allestiti in accordo a quanto riportato in tabella 2.

Campione di prova/Controlli	MRM	MATRICE - 25g
A1 - A7	SI	SI
C1	SI	NO
C2	SI	NO
C3	NO	SI
C4	NO	NO

Tab. 2 - Allestimento campioni di prova.

I campioni prova e i controlli 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

Il valore assegnato coincide con il valore atteso, definito dall'organizzatore del PT AQUA SA, e deriva dalla conoscenza della preparazione dei campioni prova da analizzare e dall'utilizzo di materiale di riferimento.

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 a A7) sono stati confrontati con il risultato atteso riportato nel Report Preliminare, redatto in data 10/10/2025.

Nel Report Preliminare sono stati riportati i risultati attesi per ciascuna delle 5 distribuzioni assegnate.

Contestualmente alla pubblicazione tramite AQUAWEB del Report Preliminare, ogni laboratorio ha potuto visionare il proprio codice numerico attribuitogli casualmente e quindi verificare la distribuzione ricevuta.

4. Criteri di accettabilità

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

- Controlli in assenza di matrice "C1-C2-C4": 0 errori.
- Controllo in presenza di matrice "C3"; Campione negativo in presenza di matrice: accettabile 1 errore
- Campioni positivi in presenza di matrice: accettabile 1 errore.

5. Analisi dei risultati

5.1 Commenti e valutazioni dati tecnici

I dati tecnici sono stati riportati da tutti i laboratori che hanno inviato la scheda di inserimento dei risultati, sul totale di 27 partecipazioni.

Per quanto riguarda il metodo utilizzato,

- n.10 laboratori: metodo ISO
- n.1 laboratorio: metodo alternativo
- n.1 laboratorio: metodo ISO & metodo alternativo

I metodi alternativi utilizzati sono stati i seguenti:

- AFNOR BRD 07/06-07/04
- AFNOR BIO 12/32-10/11

Per la conferma biochimica, sono stati utilizzati diversi sistemi di identificazione, tra cui:

- gallerie API Microbact GNB 12 A (Gram Negative Bacillus Identification System)
- API 20E
- Oxidase Test Stick
- EnteroPluri-Test
- API ID 32 E,
- Microgen GN-A,

La conferma sierologica è stata eseguita principalmente mediante antisieri di Salmonella.

5.2 Sintesi dei risultati

Valutazione Controlli da C1 a C4

I controlli da C1 a C3, sono stati correttamente identificati da tutti i laboratori partecipanti. I laboratori (ID 5 e 17) non hanno eseguito il controllo C4 (APTS in assenza di matrice e di MRM).

Valutazione Campioni artificialmente contaminati da A1 ad A7

Per la **distribuzione 1** il laboratorio ID 2 non ha rilevato la presenza di *Salmonella* spp. nel campione prova artificialmente contaminato A1, e rilevata la presenza nel campione non contaminato A4. Tale risultato è soddisfacente.

Per la **distribuzione 2** il laboratorio ID 4 non ha rilevato la presenza di *Salmonella* spp. nel campione artificialmente contaminato A4. Il risultato è considerato soddisfacente.

Per la **distribuzione 3** il laboratorio ID 1 non ha rilevato la presenza di *Salmonella* spp. nel campione artificialmente contaminato A2. Il laboratorio ID 6 non ha rilevato la presenza di *Salmonella* spp. nel campione artificialmente contaminato A3. Il risultato è considerato soddisfacente per entrambi i laboratori.

Distribuzione 1

		Laboratori			
Distribuzione 1		ID 2	ID 5	ID 8	ID 11
Campione	Esito Atteso				
A1	rilevato	non-rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A3	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A4	non-rilevato	rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A5	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A6	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A7	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-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 2

Distribuzione 2	Laboratori				
	ID 4	ID 9	ID 10	ID 12	
Campione	Esito Atteso				
A1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A2	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A3	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A4	Rilevato	non-rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A5	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A6	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A7	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-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

Distribuzione 3	Laboratori				
	ID 1	ID 3	ID 6	ID 7	
Campione	Esito Atteso				
A1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A2	rilevato	non-rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A3	rilevato	rilevato	rilevato	non-rilevato	rilevato
A4	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A5	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A6	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A7	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-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

5.3 Valutazione della performance dei laboratori partecipanti

In tabella 3 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
1	3	OK	OK	OK
2	1	OK	OK	OK
3	3	OK	OK	OK
4	2	OK	OK	OK
5	1	OK	OK	OK
6	3	OK	OK	OK
7	3	OK	OK	OK
8	1	OK	OK	OK
9	2	OK	OK	OK
10	2	OK	OK	OK
11	1	OK	OK	OK
12	2	OK	OK	OK

Tab. 3 - Tabella riassuntiva delle distribuzioni e della valutazione della performance sulla base dei criteri di accettabilità.

6. Conclusioni

Tutti i 12 laboratori partecipanti al PT SA 3b-25 hanno soddisfatto i criteri minimi previsti, ottenendo performance soddisfacente.

Il presente Report Finale dedicato esclusivamente ai laboratori privati è redatto in ottemperanza a quanto previsto dall'Allegato 6 del "Piano Nazionale di Controllo delle Salmonellosi negli Avicoli 2022-2024 (PNCS)" avente come oggetto la "Procedura operativa per l'identificazione dei laboratori privati che intendono eseguire l'analisi di isolamento di *Salmonella* spp. dai campioni prelevati dagli OSA in ambito PNCS".

Il Report Finale 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 autorizzati pubblicato nel [Sistema Informativo Veterinario](#).

Il risultato conseguito nel presente PT rimane valido fino al 31 dicembre 2028 (3 anni a partire dall'anno di partecipazione).

Dott.ssa Lisa Barco
Responsabile del PT AQUA SA

----- Fine report finale -----