

# Aqua

Circuito interlaboratorio  
per l'assicurazione qualità  
dei risultati

Circuito di sierotipizzazione *Salmonella* spp.  
**Report definitivo schema  
AQUA SA 1-23 e SA2-23  
2023**

Responsabile Circuito interlaboratorio Aqua Sierotipizzazione *Salmonella*

Dott.ssa Lisa Barco                      Tel. 049 808 4137                      e-mail [crns.circuiti@izsvenezie.it](mailto:crns.circuiti@izsvenezie.it)

Responsabile tecnico

Dott.ssa Cristina Saccardin              Tel. 049 808 4283                      e-mail [crns.circuiti@izsvenezie.it](mailto:crns.circuiti@izsvenezie.it)

Responsabile statistico

Dott.ssa Marzia Mancin                      Tel. 049 808 4431                      e-mail [mmancin@izsvenezie.it](mailto:mmancin@izsvenezie.it)

Segreteria

Dott.ssa Paola Pestelli                      Tel. 049 808 4137                      e-mail [crns.circuiti@izsvenezie.it](mailto:crns.circuiti@izsvenezie.it)

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

## Report Definitivo

### Sommario

Introduzione	5
Laboratori partecipanti	5
1. Caratteristiche, composizione e controllo campioni	7
1.1 Composizione dei campioni prova	7
1.2 Prove di omogeneità e stabilità	8
2. Invio, istruzioni e modalità operative	8
3. Valori assegnati	9
4. Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance relativamente allo schema SA1	9
5. Risultati schema SA1	10
6. Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance relativamente allo schema SA2	18
7. Risultati schema SA2	18
8. Commenti generali SA1 e SA2	23
9. Conclusioni	26
Privacy	27

### Indice Tabelle

Tab. 1 – Formule antigeniche dei ceppi di <i>Salmonella</i> spp. utilizzati (schema di Kauffmann-White-Le Minor e successive modifiche ed integrazioni)	7
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)	8
Tab. 3 - Calendario attività	9
Tab. 4 – Penalità complessive per ciascun laboratorio partecipante [SA1]	10
Tab. 5 – Attribuzione esiti per laboratorio.	11
Tab. 6 - Risultati del test per ceppo	13
Tab. 7 - Dettaglio delle sierotipizzazioni non corrette per ceppo.	14
Tab. 8 - Valore di concordanza K e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante e complessivo del Circuito [SA1]	16
Tab. 9 - Scala di Landis & Koch	17
Tab. 10 - Penalità complessiva per ciascun laboratorio partecipante [SA2]	18
Tab. 11 - Espressione dei risultati [SA2] - (S.E: S. Enteritidis; S.T: S. Typhimurium; VMST: Variante Monofasica di S. Typhimurium)	18
Tab. 12 - Attribuzione esiti per laboratorio [SA2]	19
Tab. 13 - Risultati del test per ceppo.	21

---

Tab. 14 - Valore di concordanza K e significatività (p-value) di ciascun laboratorio partecipante [SA2]	21
Tab. 15 - Scala di Landis & Koch [SA2]	22

## **Indice Grafici**

Grafico 1 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio	11
Grafico 2 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio	12
Grafico 3 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratorio	12
Grafico 4 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo	15
Grafico 5 - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo	15
Grafico 6 - Risultati identificazione dei sierotipi	16
Grafico 7 - Performance dello schema di sierotipizzazione SA1 nel tempo	17
Grafico 8 – Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio [SA2]	19
Grafico 9 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio [SA2]	20
Grafico 10 - Risultati dell'identificazione dei sierotipi per laboratorio [SA2]	20
Grafico 11 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo	22
Grafico 12 - Identificazione degli antigeni somatici per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)	23
Grafico 13 - Identificazione degli antigeni ciliari per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)	23
Grafico 14 - Identificazione dei sierotipi per laboratorio nel tempo (2021 - 2023)	24
Grafico 15 - Identificazione degli antigeni somatici per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)	24
Grafico 16 - Identificazione degli antigeni ciliari per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)	25
Grafico 17 - Identificazione dei sierotipi per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)	25

## Introduzione

Il presente report descrive i risultati relativi al XXIII Circuito di sierotipizzazione *Salmonella* spp. (edizione 2023) organizzato dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS).

Il circuito consta di due schemi:

- **SA1-23** 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;
- **SA2-23** 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; inoltre questi sierotipi rappresentano oggetto di criterio microbiologico per la carne fresca di pollo. Di conseguenza per alcuni laboratori, la sierotipizzazione di ceppi di *Salmonella* è mirata all'identificazione esclusiva (o alla esclusione) di questi tre sierotipi.

## Laboratori partecipanti

I laboratori partecipanti ai due schemi sono di seguito elencati:

- IZS dell'Abruzzo e del Molise, sede di Teramo (\*)
- IZS del Lazio e della Toscana, sede di Roma
- IZS della Lombardia e dell'Emilia Romagna, sede di Brescia
- IZS del Mezzogiorno, sede di Portici (\*)
- IZS di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, sede di Torino (\*)
- IZS della Puglia e della Basilicata, sede di Foggia
- IZS della Sicilia, sede Palermo (\*)
- IZS dell'Umbria e delle Marche, sede di Tolentino
- IZS dell'Umbria e delle Marche - Microbiologia alimenti, sede di Perugia
- Laboratorio ATS Milano
- Laboratorio privato BIOLAB 2000
- Laboratorio privato EPTA NORD
- Laboratorio privato LA.ECO.VET
- Laboratorio privato GESCO, sede Brescia
- Laboratorio privato GESCO, sede di Forlì-Cesena
- Laboratorio privato TRE VALLI, sede di Verona
- Laboratorio privato VALLERANA, sede di Cremona

(\*) Laboratori che hanno eseguito entrambi gli schemi.

Allo schema SA1-23 hanno preso parte n. 2 laboratori privati, n. 9 laboratori afferenti agli IIZZSS e 1 laboratorio della Regione Lombardia.

Allo schema SA2-23 hanno partecipato n. 5 laboratori privati e n. 4 laboratori afferenti agli IIZZSS.

---

Al fine di tutelare la riservatezza dei dati nel presente documento i laboratori partecipanti sono resi anonimi e 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.

## 1. Caratteristiche, composizione e controllo campioni

I ceppi selezionati per il circuito, in qualità di Materiali di Riferimento della collezione del CRNS, sono stati ricevuti dallo European Union Reference Laboratory for Salmonella, RIVM – NL (EURL-Salmonella) in occasione dei precedenti Proficiency Tests a cui il CRNS partecipa annualmente e per i quali il sierotipo è stato confermato dall'ente organizzatore.

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.

I sierotipi selezionati sono stati confermati mediante il metodo di sierotipizzazione molecolare basato su tecnologia bead-suspension array in fase liquida e, in caso di esito non completo, con la metodica di agglutinazione ISO TR 6579-3:2014.

### 1.1 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.

SA1-23	Risultato Atteso		
	N. Campione	Antigene Somatico	Antigeni ciliari
S1	<u>1</u> ,9,12	l,v:1,5	S. Panama
S2	1,3,19	d:1,5	S. Ahmadi
S3	<u>1</u> ,13,23	m,t:-	S. Kintambo
S4	3,{10}{ <u>15</u> }	r:z <sub>6</sub>	S. Weltevreden
S5	<u>1</u> ,4,[5],12	i:1,5	S. Lagos
S6	6,7, <u>14</u>	y:e,n,z <sub>15</sub>	S. Mikawasima
S7	8	d:1,2	S. Virginia
S8	<u>1</u> ,4,12,[27]	l,[z <sub>13</sub> ],z <sub>28</sub> :1,5	S. Tyresoe
S9	<u>1</u> ,9,12	g,m:-	S. Enteritidis
S10	11	e,h:1,2	S. Chingola
S11	<u>1</u> ,4,12,27	b:e,n,z <sub>15</sub>	S. Wagania
S12	4,[5],12	l,v:e,n,z <sub>15</sub>	S. Brandenburg
S13	1,4,[5],12	i:-	VMST
S14	<u>1</u> ,4,12,[27]	b:l,w	S. Wien
S15	6,7, <u>14</u>	r:1,2	S. Virchow
S16	<u>1</u> ,9,12	l,z <sub>13</sub> :e,n,x	S. Napoli
S17	6,7, <u>14</u>	r:1,5	S. Infantis
S18	6,8	z <sub>10</sub> :e,n,x	S. Hadar
S19	3,{10}{ <u>15</u> }{ <u>15</u> , <u>34</u> }	e,h:1,6	S. Anatum
S20	<u>1</u> ,4,[5],12	i:1,2	S. Typhimurium

**Tab. 1** – Formule antigeniche dei ceppi di *Salmonella* spp. utilizzati (schema di Kauffmann-White-Le Minor 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 2 sono riportati i sierotipi testati con la rispettiva formula antigenica completa.

SA2-23	Risultato atteso		
N. Campione	Antigene somatico	Antigeni ciliari	Sierotipo
S1	<u>1</u> ,4,[5],12	i:1,2	S. Typhimurium
S2	<u>1</u> ,9,12	g,m:-	S. Enteritidis
S3	1,4,[5],12	i:-	VMST
S4	1,4,[5],12	i:-	VMST
S5	<u>1</u> ,9,12	g,m:-	S. Enteritidis
S6	<u>1</u> ,4,[5],12	i:1,2	S. Typhimurium
S7	6,7, <u>14</u>	r:1,5	S. Infantis
S8	1,4,[5],12	i:-	VMST
S9	<u>1</u> ,4,[5],12	i:1,2	S. Typhimurium
S10	<u>1</u> ,9,12	g,m:-	S. Enteritidis

**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.

## 1.2 PROVE DI OMOGENEITÀ E STABILITÀ

Le prove di omogeneità e stabilità dei campioni prova sono state eseguite mediante la metodica di agglutinazione (ISO TR 6579-3:2014).

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.

## 2. Invio, istruzioni e modalità operative

A fine 2022 nel sito web dell'IZSVe (<http://www.izsvenezie.it/servizi/altri-servizi/circuitointerlaboratorio-aqua/>) sono stati pubblicati i calendari degli schemi disponibili per il 2023 e la relativa scheda di sicurezza.

In data 27/02/23 a tutti i partecipanti, è stato reso disponibile il documento IZS MOD 511 AQUA SA1-SA2 relativo alle modalità operative e alla pianificazione temporale del circuito.

Si riporta di seguito il calendario di pianificazione definitivo degli schemi con i dettagli delle attività previste (tabella 3).



Data	Attività
Entro il 31/01/2023	Scadenza iscrizioni Aquaweb Invio pianificazione
Settimana del 27/03/2023	Spedizione ceppi
Dal 03/04/2023 al 28/04/2023	Analisi dei ceppi da parte di ciascun laboratorio partecipante
Entro il 02/05/2023	Trasmissione dei risultati al CRNS tramite la scheda di inserimento risultati in Aquaweb
Entro il 12/05/2023	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 indicato di procedere ad allestire una brodocoltura 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.

### 3. 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.

### 4. 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 sierotipizzati 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.	4	4	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0

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

Complessivamente, due laboratori hanno totalizzato 4 penalità (L366 e L426); per il laboratorio L366 tale punteggio è riferibile all'identificazione non corretta di 4 ceppi, invece per il laboratorio L426 è riferibile all'identificazione non corretta di un unico ceppo, appartenente a un sierotipo rilevante (S. Virchow).

## 5. 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 nel triennio (compreso l'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.

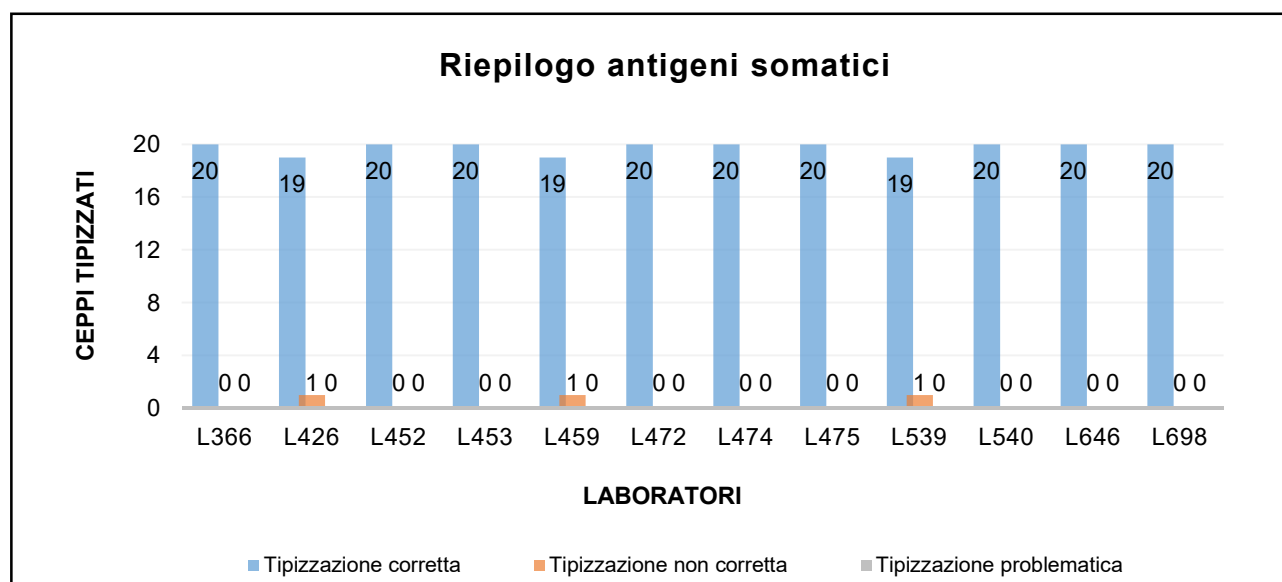
Per sierotipizzazione problematica si intende una sierotipizzazione non esente da aspetti critici intrinseci, verosimilmente a causa di una cross-reazione dei sieri utilizzati.

Sierotipizz. Codice lab.	Antigene somatico			Antigeni ciliari			Sierotipo		
	Corretta	Non corretta	Problematica	Corretta	Non corretta	Problematica	Corretta	Non corretta	Problematica
L366	19	1	0	17	3	0	16	4	0
L426	19	1	0	20	0	0	19	1	0
L452	20	0	0	19	1	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	20	0	0	20	0	0	20	0	0
L475	20	0	0	20	0	0	20	0	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.

Sei laboratori hanno sierotipizzato correttamente 20 ceppi su 20 (codice L453, L472, L474, L475, L540, L698). Cinque laboratori hanno sierotipizzato correttamente 19 ceppi su 20 (L426, L452, L459, L539, L646). Un laboratorio ha sierotipizzato correttamente 16 ceppi su 20 (L366); tra questi, per il ceppo S3, è stata indicata una formula antigenica non corrispondente al sierotipo.

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

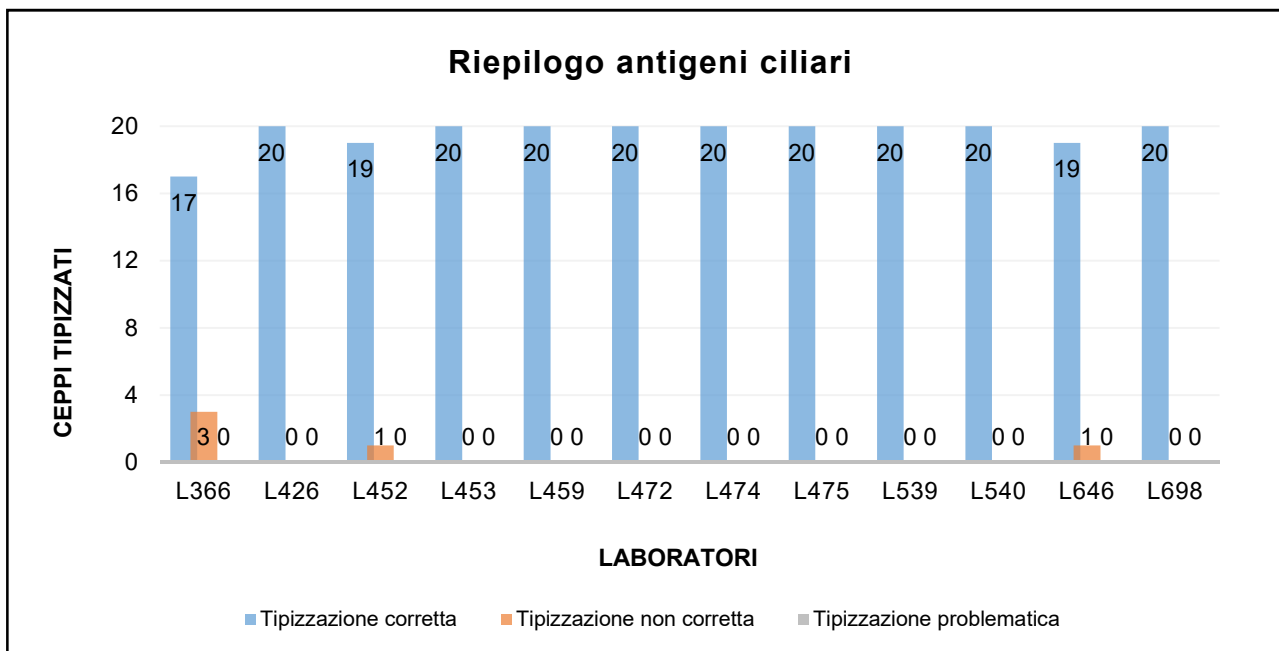


Grafico 2 - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni ciliari per laboratorio

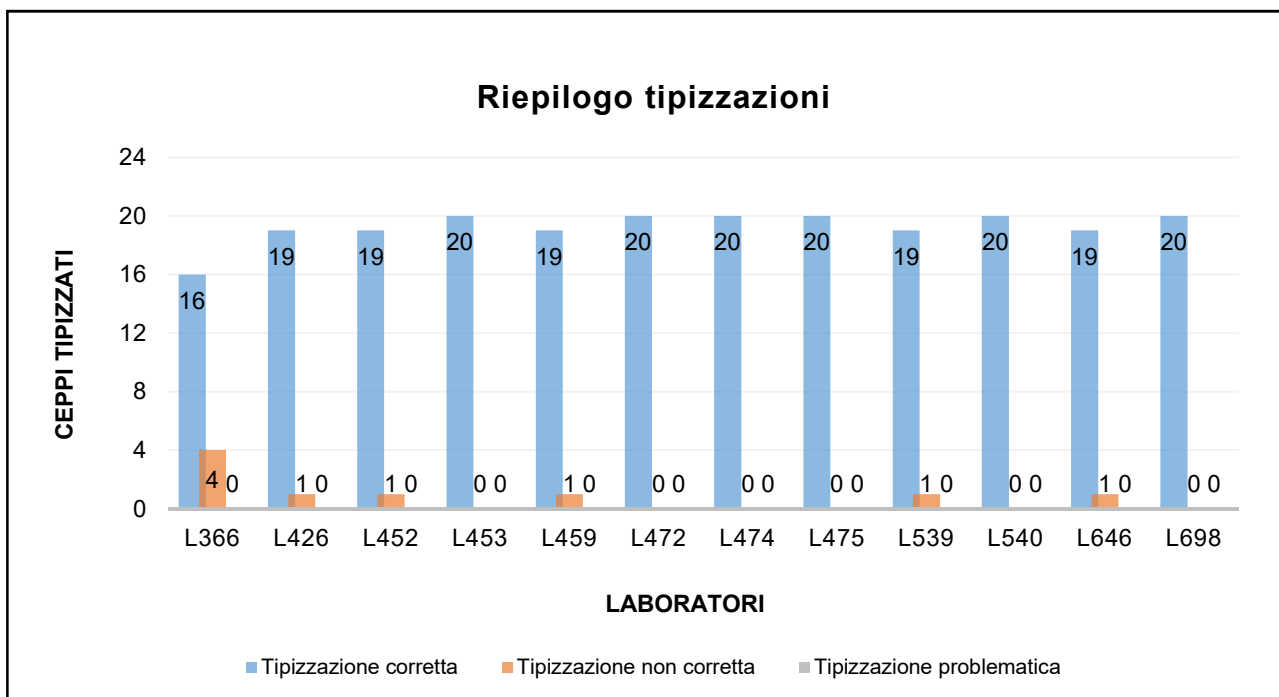


Grafico 3 - Risultati identificazione dei sierotipi per laboratorio

In tabella 6 vengono riportati i risultati per ceppo.

Sierotipizz.	Somatico			Ciliare			Sierotipizzazione		
	Corretta	Non corretta	Problematica	Corretta	Non corretta	Problematica	Corretta	Non corretta	Problematica
S. Panama	20	0	0	19	1	0	19	1	9
S. Ahmadi	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Kintambo	20	0	0	19	1	0	18	2	0
S. Weltevreden	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Lagos	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Mikawasima	20	0	0	19	1	0	19	1	0
S. Virginia	18	2	0	20	0	0	18	2	0
S. Tyresoe	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Enteritidis	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Chingola	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Wagenia	19	1	0	19	1	0	19	1	0
S. Brandenburg	20	0	0	19	1	0	19	1	0
VMST	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Wien	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Virchow	19	1	0	20	0	0	19	1	0
S. Napoli	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Infantis	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Hadar	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Anatum	20	0	0	20	0	0	20	0	0
S. Typhimurium	20	0	0	20	0	0	20	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 (evidenziati in grigio) 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
<b>S1</b>	<b>S. Panama</b>	<b><u>1,9,12</u></b>	<b>l,v:1,5</b>	<b>CRNS</b>
	S. Houston	9,12	l,v: 1,5: <b>d</b>	<b>L646</b>
<b>S3</b>	<b>S. Kintambo</b>	<b><u>1,13,23</u></b>	<b>m,t:-</b>	<b>CRNS</b>
	S. Agbeni	13,23	m,t:-	<b>L366</b>
	S. Agbeni	1,13,23	<b>g</b> ,m,t:-	<b>L452</b>
<b>S6</b>	<b>S. Mikawasima</b>	<b><u>6,7,14</u></b>	<b>y:e,n,z<sub>15</sub></b>	<b>CRNS</b>
	S. Hartford	6,7	y:e,n, <b>x</b>	<b>L366</b>
<b>S7</b>	<b>S. Virginia</b>	<b>8</b>	<b>d:1,2</b>	<b>CRNS</b>
	S. Muenchen	<b>6,8</b>	d:1,2	<b>L459</b>
	S. Muenchen	<b>6,8</b>	d:1,2	<b>L539</b>
<b>S11</b>	<b>S. Wagenia</b>	<b><u>1,4,12,27</u></b>	<b>b:e,n,z<sub>15</sub></b>	<b>CRNS</b>
	S. Abony	4,12	b:e,n, <b>x</b>	<b>L366</b>
<b>S12</b>	<b>S. Brandenburg</b>	<b><u>4,[5],12</u></b>	<b>l,v:e,n,z<sub>15</sub></b>	<b>CRNS</b>
	S. Kimuenza	4,12	v:e,n, <b>x</b>	<b>L366</b>
<b>S15</b>	<b>S. Virchow</b>	<b><u>6,7,14</u></b>	<b>r:1,2</b>	<b>CRNS</b>
	S. Heidelberg	<b>1,4,5,12</b>	r:1,2	<b>L426</b>

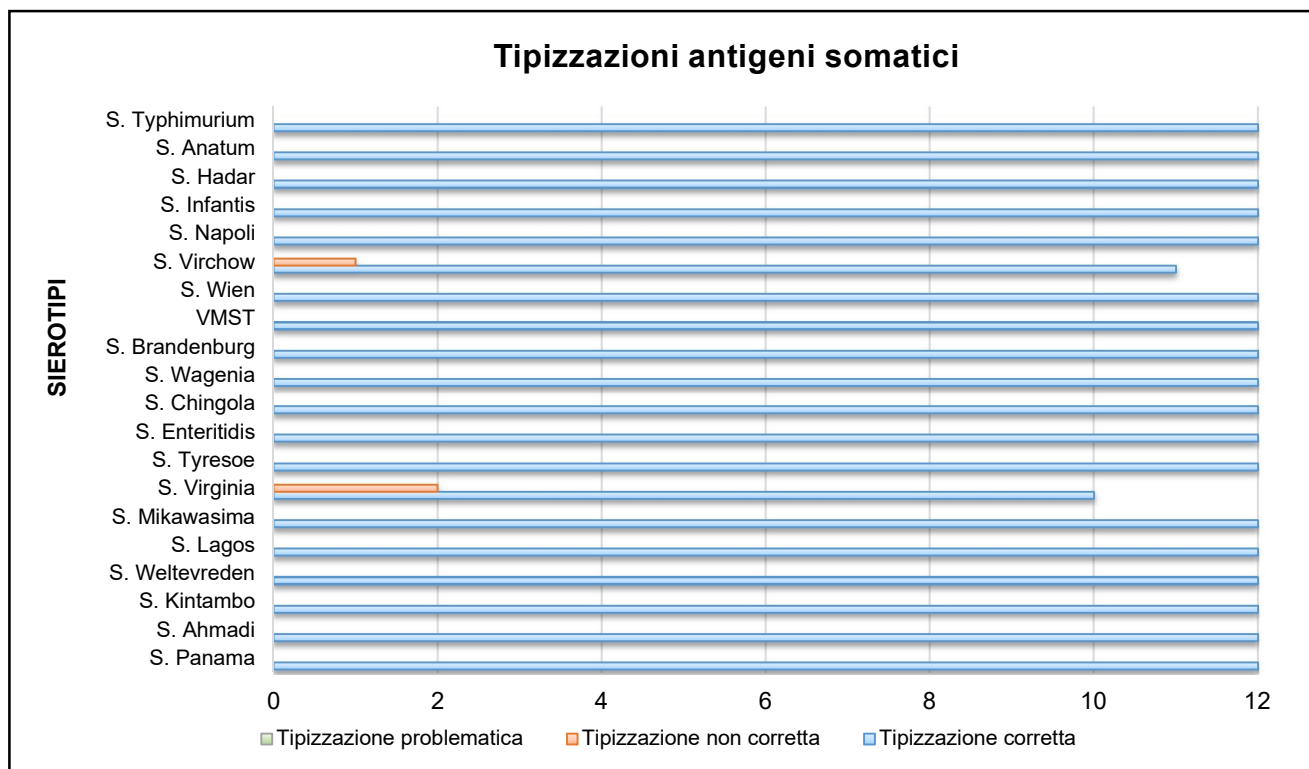
**Tab. 7** - Dettaglio delle sierotipizzazioni non corrette per ceppo.

Le identificazioni dei sierotipi S. Panama, S. Kintambo, S. Virginia, S. Wagenia S. Brandenburg e S. Virchow sono state valutate non corrette con l'attribuzione delle penalità previste. Per le identificazioni non corrette non si sono evidenziati aspetti critici correlati alle caratteristiche antigeniche dei sierotipi che possano avere influenzato i risultati ottenuti a fronte di sierotipizzazioni problematiche.

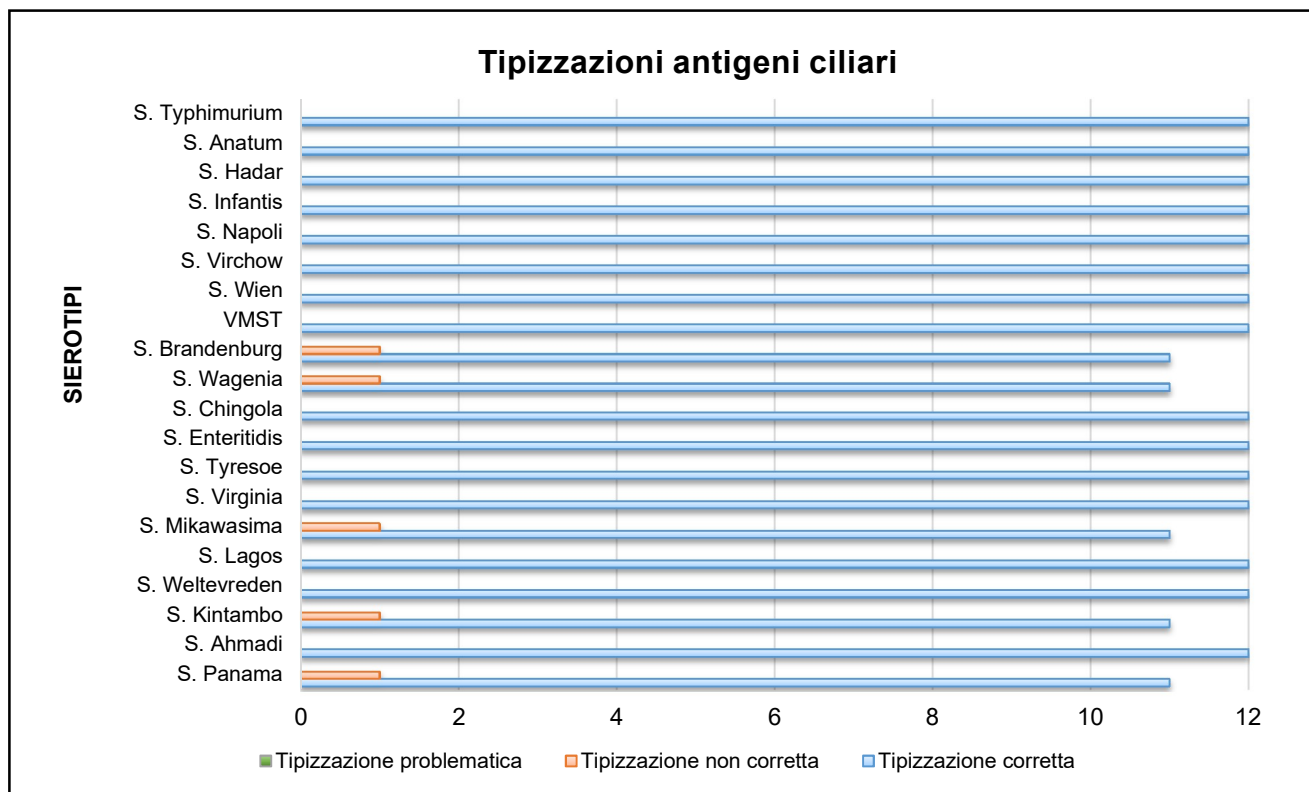
Per i sierotipi S. Virginia e S. Virchow (sierotipo rilevante) non sono stati identificati correttamente gli antigeni della fase somatica.

Per i sierotipi S. Panama, S. Kintambo, S. Wagenia e S. Brandenburg non sono stati identificati correttamente gli antigeni della fase ciliare.

I grafici 4, 5 e 6 riassumono i risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici, ciliari e dell'identificazione del sierotipo, declinati per i 20 ceppi.



**Grafico 4** - Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per sierotipo



**Grafico 5** - Risultati della tipizzazione degli antigeni ciliari per sierotipo

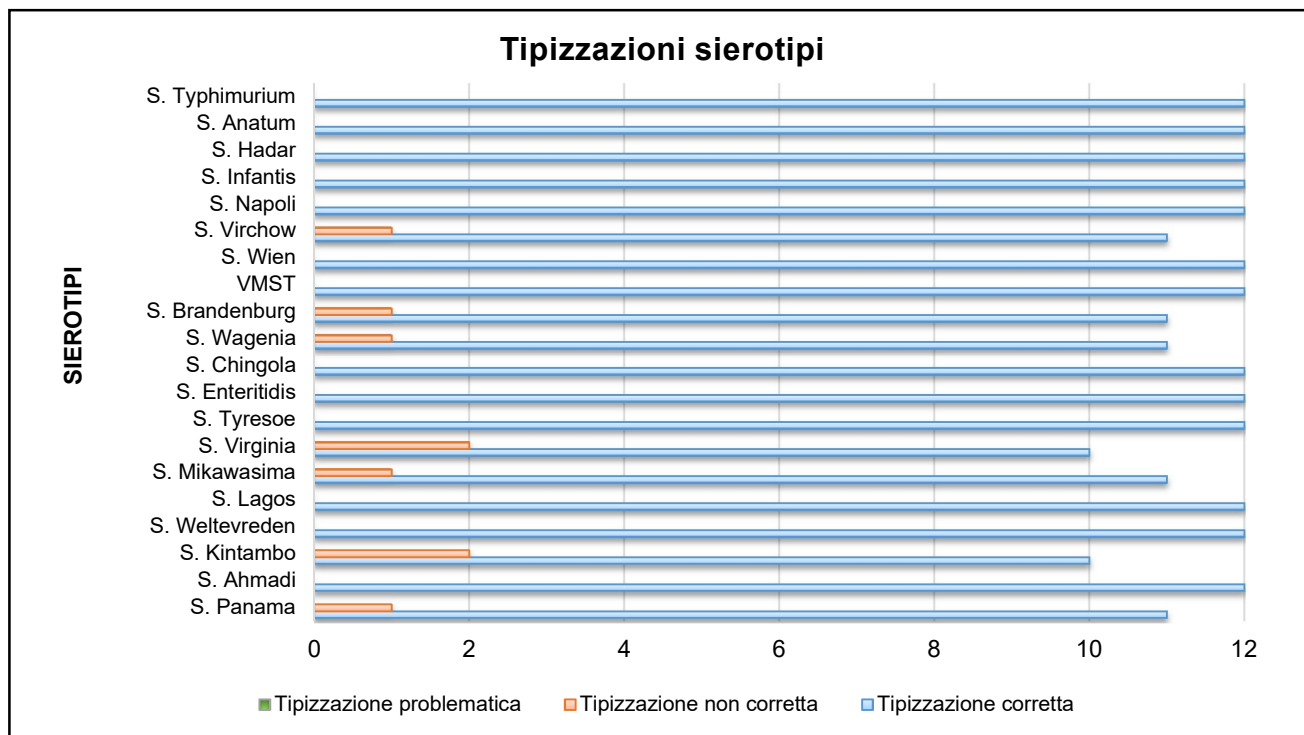


Grafico 6 - Risultati identificazione dei sierotipi

In data 08/05/2023 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. È 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
<b>K</b>	0,7917	0,9475	0,9475	1,0000	0,9475	1,0000	1,0000	1,0000	0,9475	1,0000	0,9475	1,0000	<b>0,9244</b>
<b>p-value</b>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	<b>0,0000</b>

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



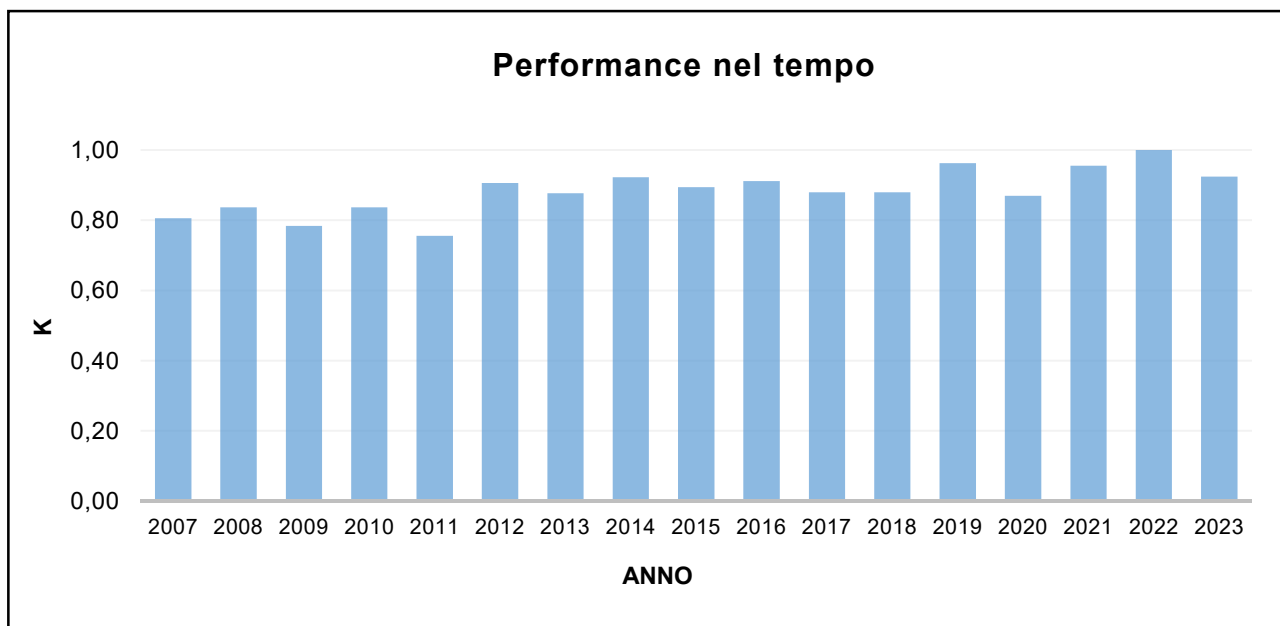
K	Concordanza
≤ 0	Scarsissima
0.01-0.20	Scarsa
0.21-0.40	Discreta
0.41-0.60	Moderata
0.61-0.80	Buona
0.81-1.00	Ottima

**Tab. 9** - Scala di Landis & Koch

Confrontando i risultati ottenuti dai singoli laboratori con la scala di Landis & Koch, 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 0,7917 e 1,0000.

Valutando i dati complessivi, la concordanza dell'intero circuito è risultata "ottima" pari a 0,9244.

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 dello schema di sierotipizzazione SA1 nel tempo

## 6. 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	L346	L356	L366	L453	L491	L516	L539	L540
Penalità	0	0	0	0	0	0	0	0

Tab. 10 - Penalità complessiva per ciascun laboratorio partecipante [SA2]

## 7. 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*; VMST: Variante Monofasica di *S. Typhimurium*)

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

Sierotipizz. Codice lab.	Antigeni somatici			Antigeni ciliari			Sierotipo		
	Corrette	Non corrette	Non indicato Non tipizzato Non completo	Corrette	Non corrette	Non indicato Non tipizzato Non completo	Corrette	Non corrette	Non indicato Non tipizzato Non completo
L346	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L356	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L366	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L453	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L491	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L516	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L539	10	0	0	10	0	0	10	0	0
L540	10	0	0	10	0	0	10	0	0

Tab. 12 - Attribuzione esiti per laboratorio [SA2]

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

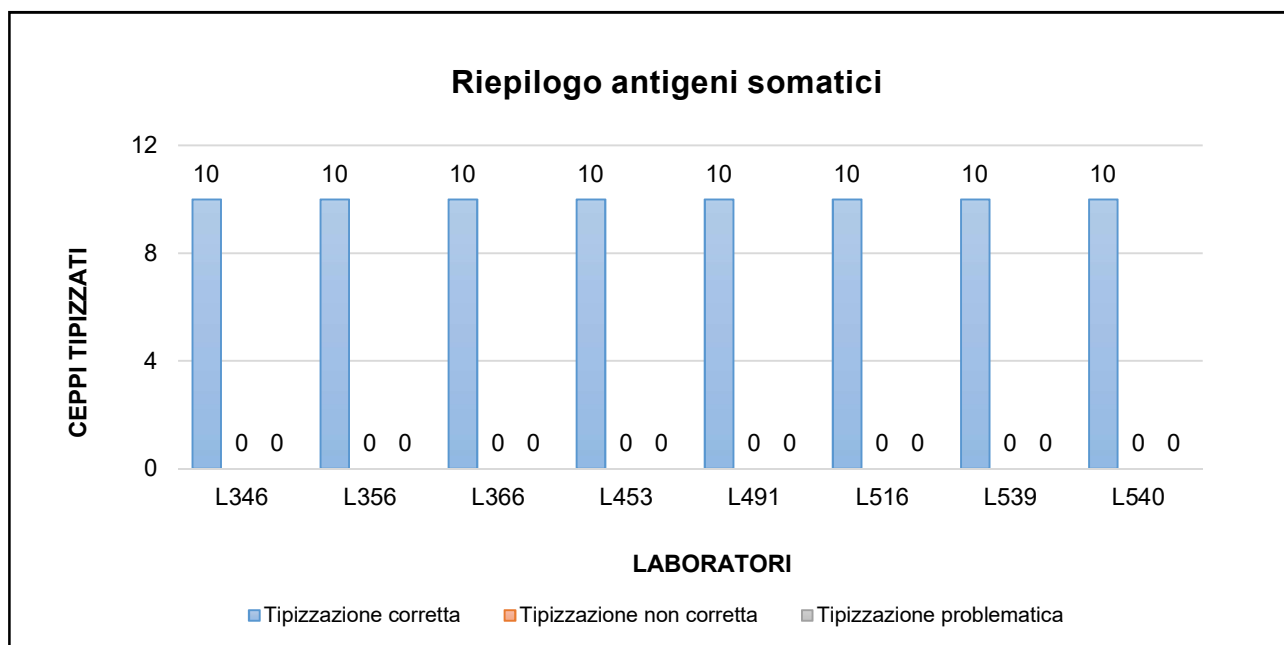
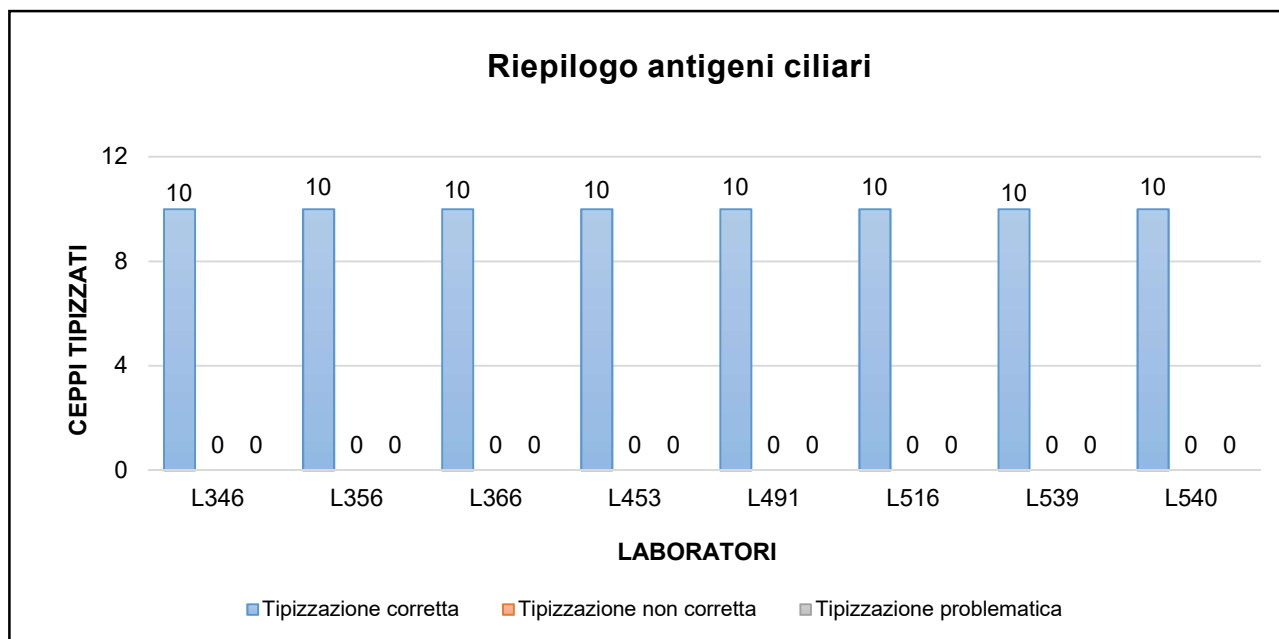
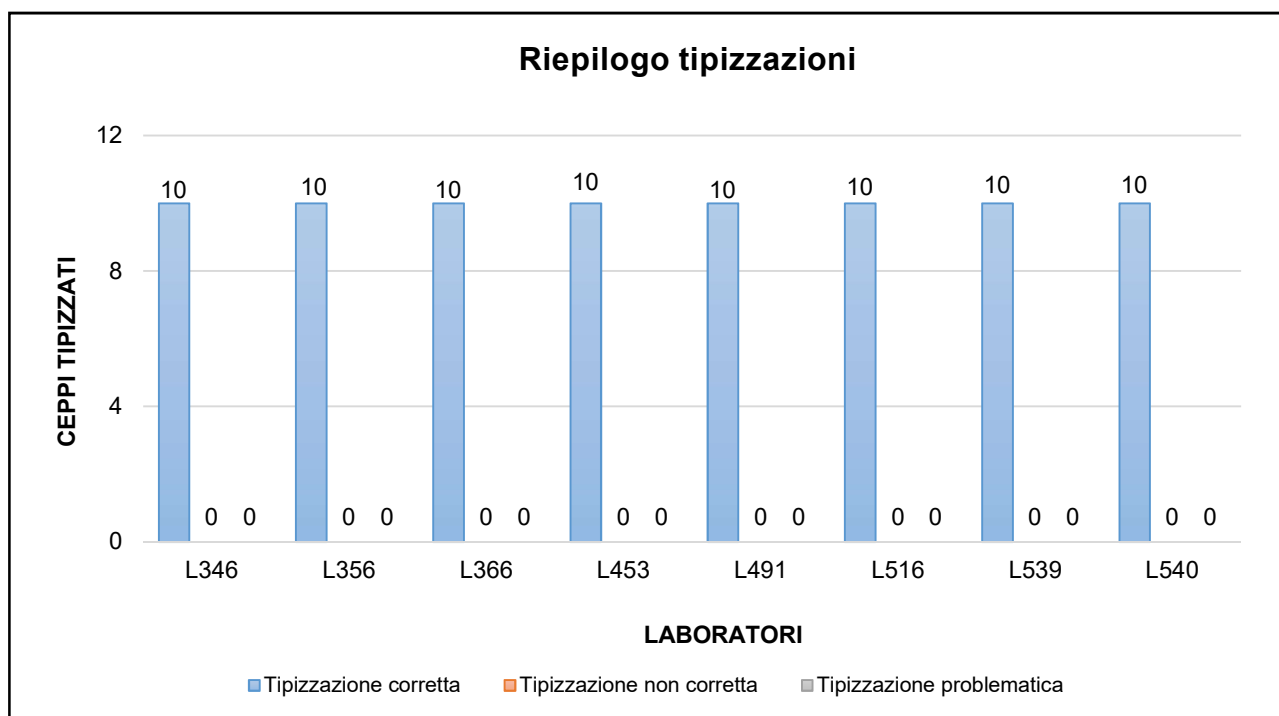


Grafico 8 – Risultati della sierotipizzazione degli antigeni somatici per laboratorio [SA2]



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



**Grafico 10** - Risultati dell'identificazione dei sierotipi per laboratorio [SA2]

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

Sierotipizz.	Somatico		Ciliare		Sierotipizzazione	
	Corretta	Non corretta	Corretta	Non corretta	Corretta	Non corretta
S. Typhimurium	4	0	4	0	4	0
S. Enteritidis	4	0	4	0	4	0
VMST	4	0	4	0	4	0
VMST	4	0	4	0	4	0
S. Enteritidis	4	0	4	0	4	0
S. Typhimurium	4	0	4	0	4	0
S. Infantis	4	0	4	0	4	0
VMST	4	0	4	0	4	0
S. Typhimurium	4	0	4	0	4	0
S. Enteritidis	4	0	4	0	4	0

**Tab. 13** - Risultati del test per ceppo.

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.

È 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.

	L346	L356	L366	L453	L491	L516	L539	L540	Complessivo
<b>K</b>	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
<b>p-value</b>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	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, pari a 1,0000. Il livello di performance generale è stato ritenuto "ottimo".

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]

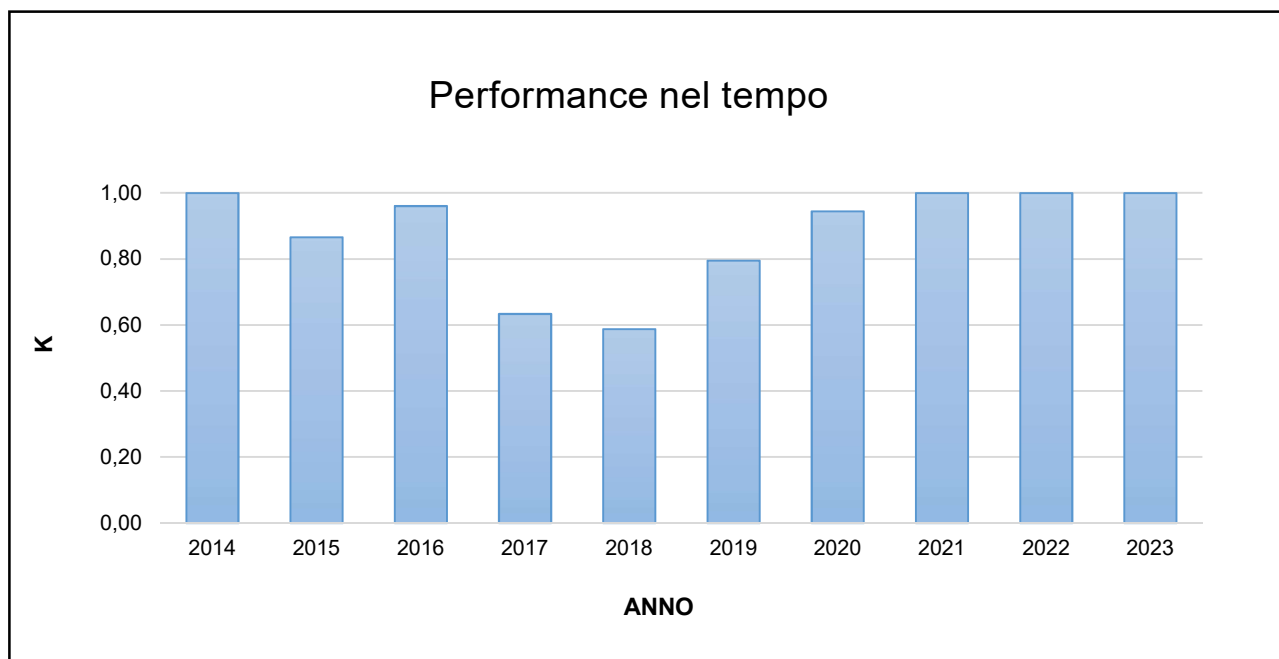


Grafico 11 - Performance del circuito di sierotipizzazione nel tempo

## 8. 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 nell'ultimo triennio (2021 – 2023).

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.

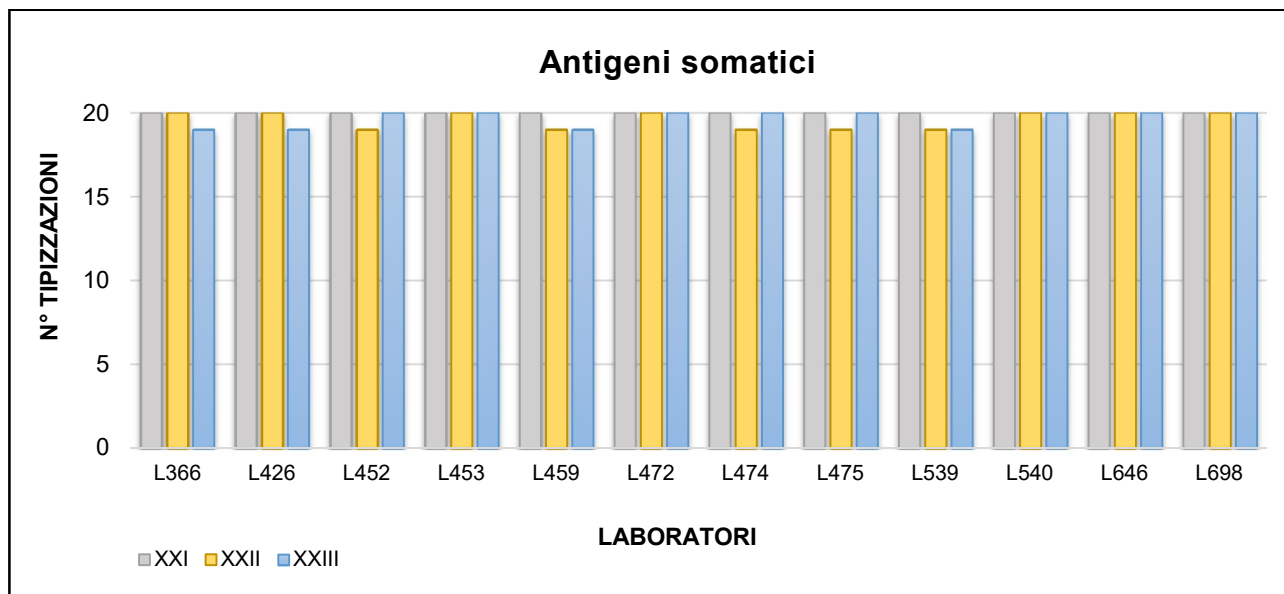


Grafico 12 - Identificazione degli antigeni somatici per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)

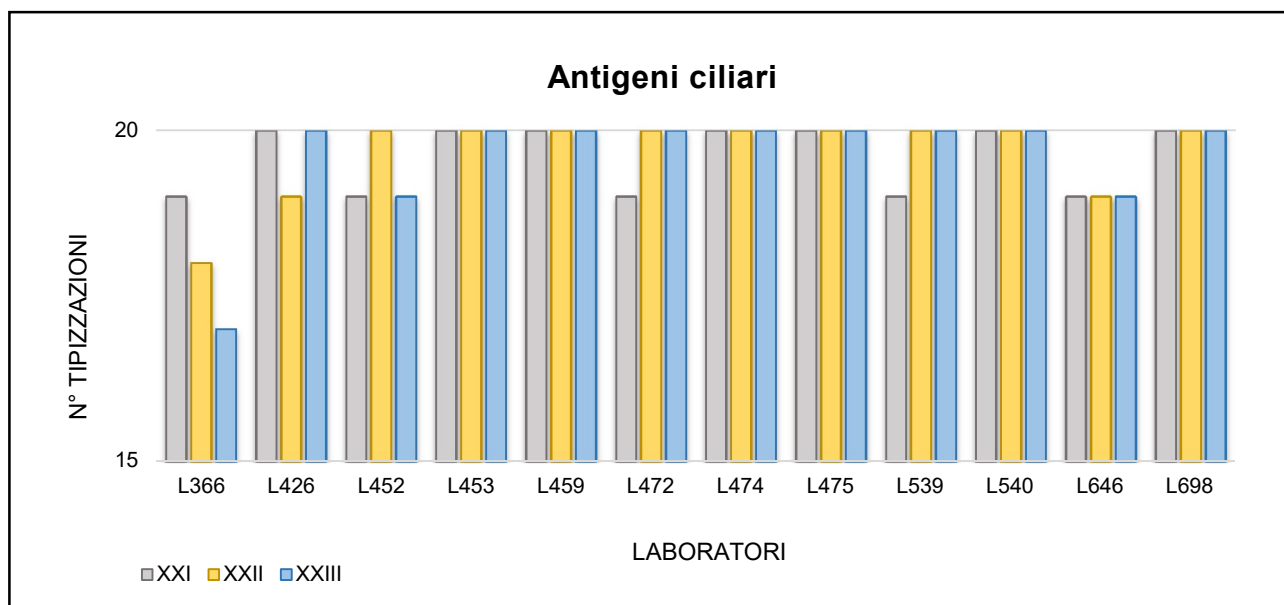
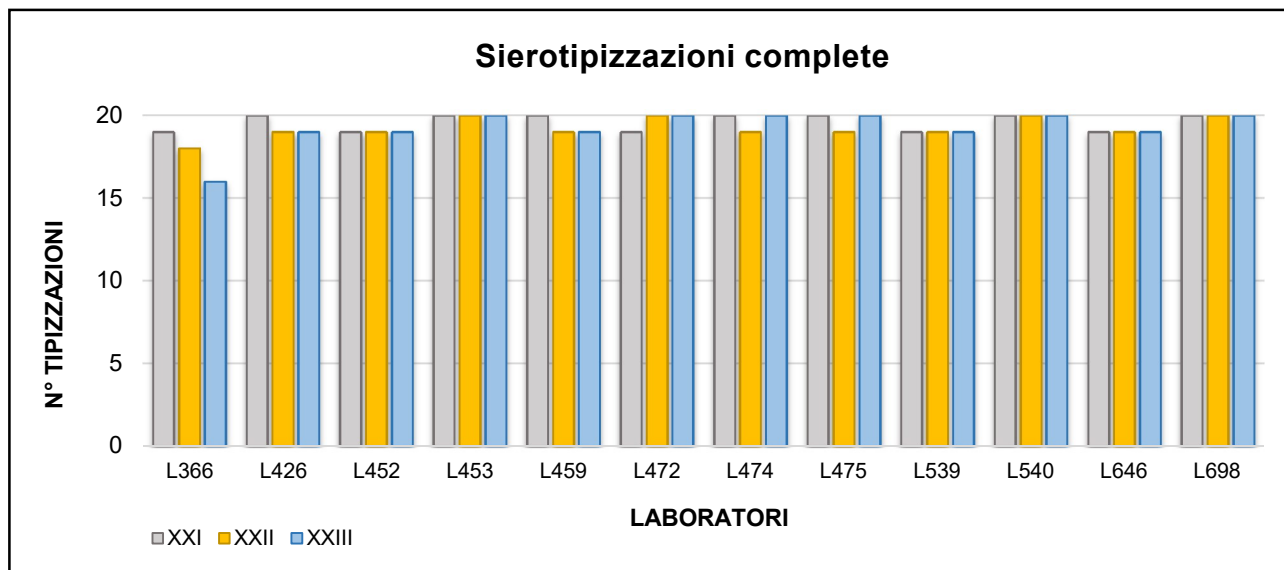
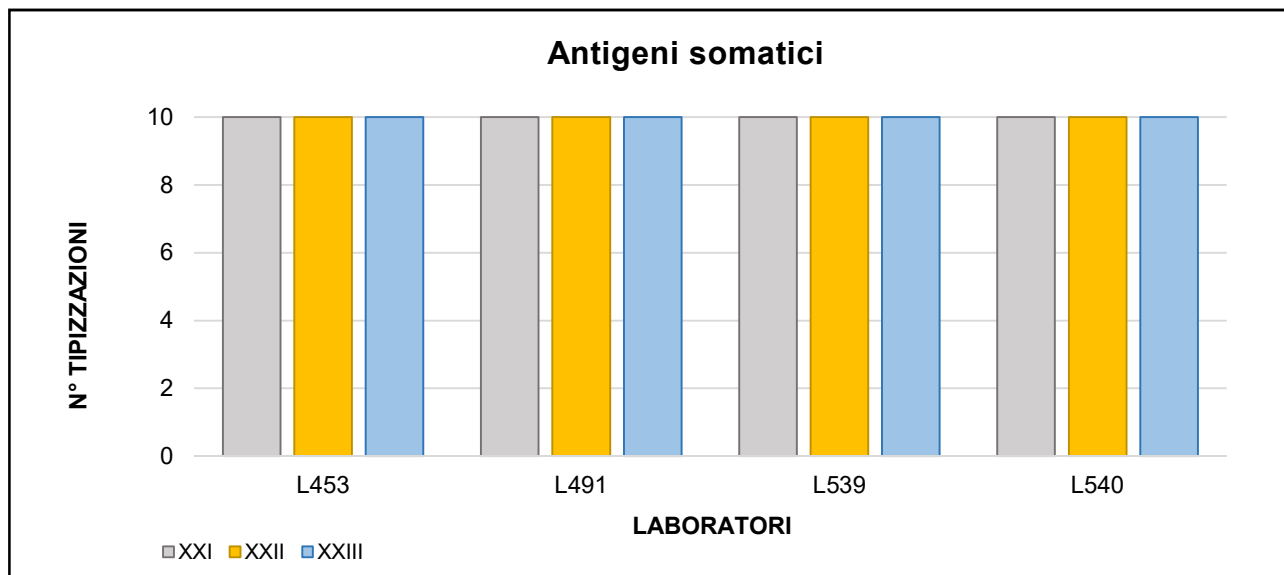


Grafico 13 - Identificazione degli antigeni ciliari per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)



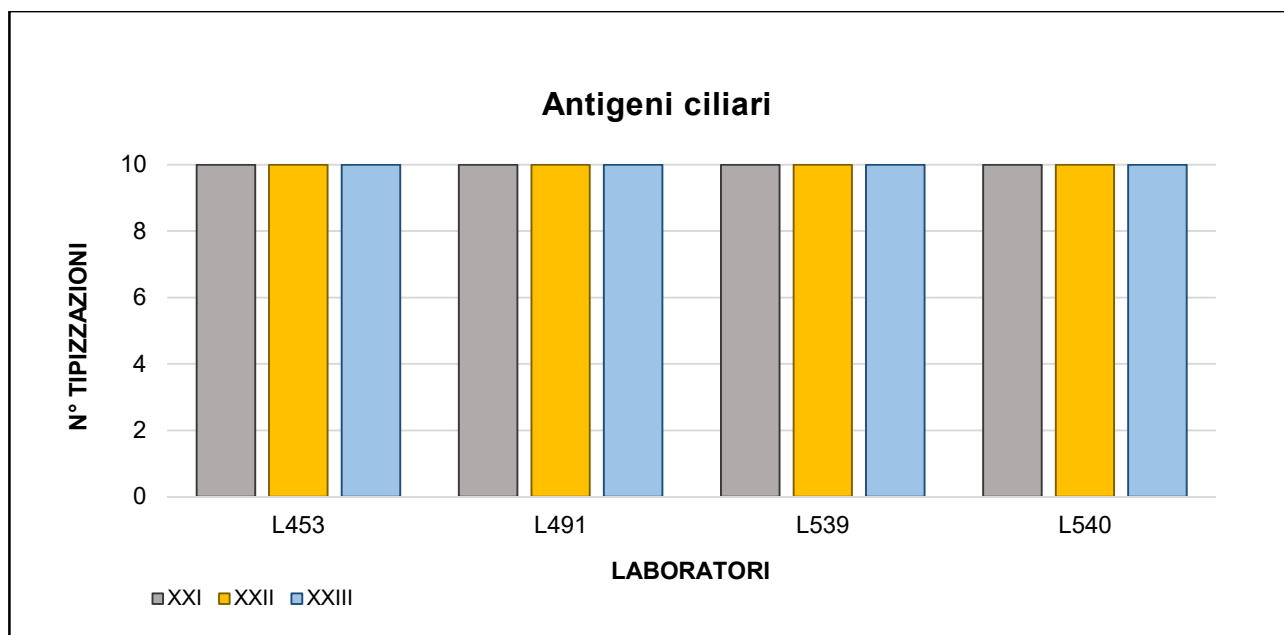
**Grafico 14** - Identificazione dei sierotipi per laboratorio nel tempo (2021 - 2023)

Per lo schema **SA2**, i grafici 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.

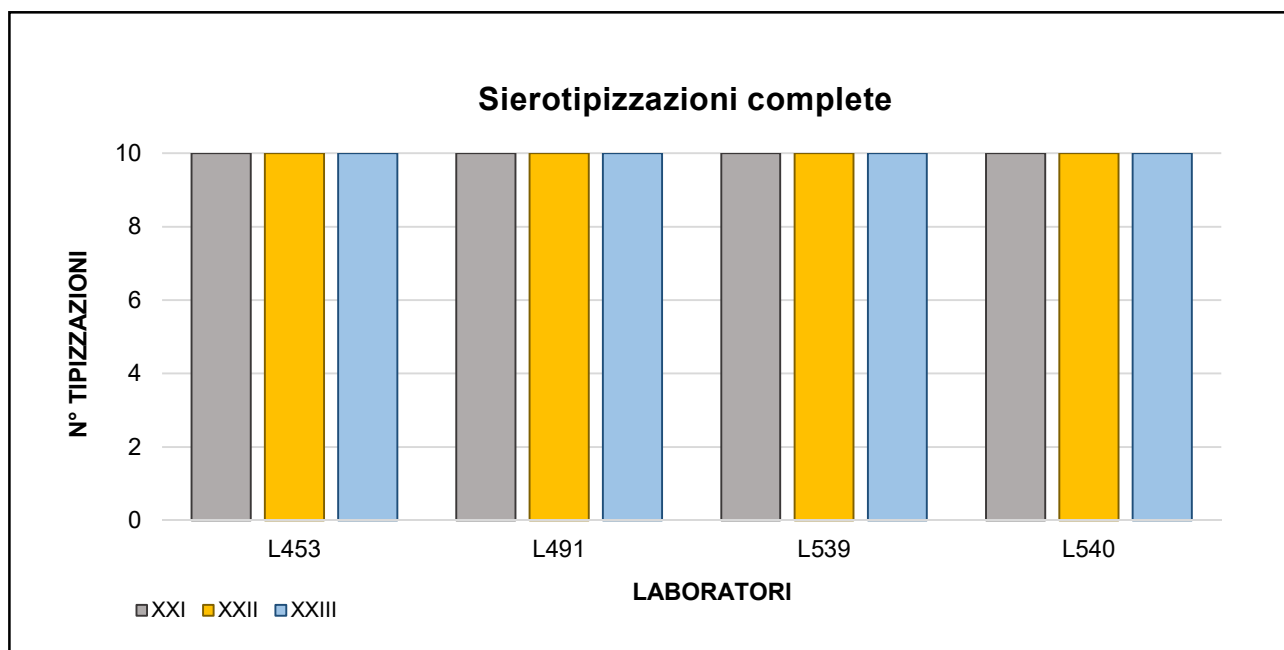


**Grafico 15** - Identificazione degli antigeni somatici per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)





**Grafico 16** - Identificazione degli antigeni ciliari per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)



**Grafico 17** - Identificazione dei sierotipi per laboratorio nel tempo (2021 – 2023)

## 9. Conclusioni

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 a vetrino. In alcuni casi la sierotipizzazione in agglutinazione è stata associata a una Multiplex PCR e/o alla metodica di sierotipizzazione molecolare in micro array.

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.

Rispetto alle precedenti edizioni si sono riscontrati errori di identificazione da parte dei partecipanti per entrambe le componenti ciliari e somatiche. Si raccomanda di valutare la qualità degli antisieri utilizzati per una corretta interpretazione delle reazioni di agglutinazione.

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 6 laboratori), 1 (ottenuto da 4 laboratori) e 4 (ottenuto da 2 laboratori). Due performance sono risultate non soddisfacenti, in particolare per 4 identificazioni non corrette e per l'errata identificazione del sierotipo rilevante *S. Virchow*. I laboratori saranno contattati per un'analisi degli aspetti critici riscontrati a cui sarà proposto un circuito di follow-up.

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 eseguito 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.

## Privacy

I laboratori, al momento dell'iscrizione al circuito interlaboratorio AQUA, sono resi anonimi e identificati solo tramite codici alfa-numeriche (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 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. 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.

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, 28 giugno 2023

Il Responsabile del Circuito Interlaboratorio AQUA SA

Dott.ssa 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](http://www.izsvenezie.it)

*IZSve – Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi  
Report definitivo emesso il 28/06/2023*