



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 3b-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



Report definitivo

Sommario

Introduzione	4
Laboratori partecipanti	4
1. Caratteristiche, composizione e controllo campioni	5
1.1 Composizione dei campioni prova	5
1.1.1 Materiale di Riferimento	5
1.1.2 Matrice	5
1.2 Prove di omogeneità e stabilità	6
2. Invio, istruzioni e modalità operative	6
3. Valori assegnati	7
3.1 Analisi dei dati	8
3.2 Criteri per la definizione di “buona performance”	8
4. Elaborazione dei risultati delle analisi sui campioni prova e valutazione della performance	9
5. Risultati	10
5.1 Commenti e valutazioni dati tecnici	10
5.2 Valutazione dei risultati	10
5.3 Valutazione della performance dei laboratori partecipanti	12
6. Conclusioni	13
Privacy	14

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.

La negatività del lotto è 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, 3 aliquote 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 l'1 e il 4

luglio 2024 sono i seguenti: $1,9 \cdot 10^9$ ufc/g per Carica Mesofila Totale (valore medio) e $7,2 \cdot 10^6$ ufc/g per Enterobacteriaceae.

1.2 Prove di omogeneità e stabilità

La prova di omogeneità è stata eseguita tra il 07/08/2024 e il 13/08/2024.

La prova di stabilità si è svolta nella settimana di esecuzione del circuito.

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

Le informazioni relative alle prove descritte 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 30/06/2024	Scadenza iscrizioni Aquaweb
Entro il 30/07/2024	Pubblicazione pianificazione e protocollo delle modalità operative.
Dal 02/09/2024 Al 06/09/2024	Spedizione del materiale ai laboratori coinvolti tramite corriere.
Dal 16/09/2024 Al 20/09/2024	Esecuzione del circuito
Entro il 27/09/2024	Inserimento dei risultati nella scheda di inserimento risultati presente in AQUAWEB.
Entro il 11/10/2024	Pubblicazione Report Parziale in Aquaweb con indicazione del risultato atteso.

Tab. 1 – Calendario attività

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

Il materiale è stato consegnato ai partecipanti nella settimana prevista e non sono state fatte segnalazioni di 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 l'analisi di 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
da A1 a A7	SI	SI	SI
C1 - 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, di diversa sequenza, in cui rimane invariato il rapporto positivi/negativi.

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 10/10/2024.

Nel Report parziale sono stati riportati i risultati attesi per ciascuna delle n.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.

Nella valutazione complessiva della performance del singolo laboratorio sono da considerarsi accettabili le situazioni in cui in totale il laboratorio commette due errori dati dalla combinazione delle casistiche b), c) e d).

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.

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

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 MRM 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 MRM S. Agbeni si è applicata una tolleranza pari a 0.

CAMPIONI	Risultati minimi	
	% positivi	N° test corretti/ N° totale di campioni
MR (sierotipo <i>Salmonella</i> spp.)	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
MR (Bianco)	~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
MR (Bianco)	~33%**	1/3*
MR (sierotipo <i>Salmonella</i> spp.)	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 tutti i 13 partecipanti che hanno inviato la scheda di inserimento dei risultati.

Il periodo previsto per il ricevimento dei campioni prova era tra il 3 e il 6 settembre 2024. Due laboratori hanno indicato l'inizio dello stoccaggio oltre tale periodo, in data 10 di settembre, come indicato nella seguente linea del tempo.

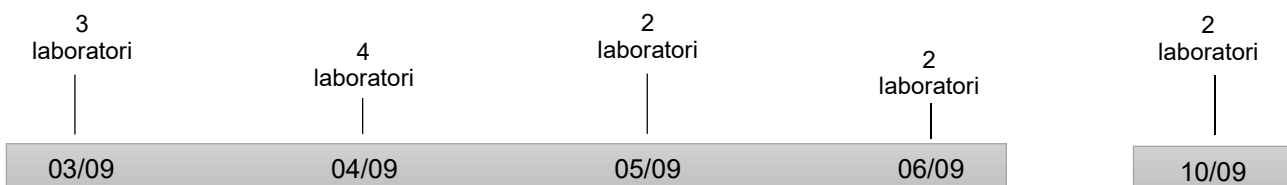


Fig. 1 – data ricezione campioni

Non è pervenuta nessuna segnalazione di mancato ricevimento nel periodo temporale indicato.

Per quanto riguarda il metodo impiegato, tutti laboratori hanno utilizzato il metodo UNI EN ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 e 2 laboratori anche un metodo alternativo.

CODICE LABORATORIO AQUA	METODO NORMATO	METODO ALTERNATIVO 1
4	ISO 6579-1:2017	AFNOR BRD 07/11-12/05
6		PO 31 rev,6:2020
1;2;3;5;7;8;9;10;11;12;13		

Tab. 6 - Riepilogo metodi utilizzati

5. Risultati

5.1 Commenti e valutazioni dati tecnici

I test biochimici utilizzati per la conferma biochimica sono prove in macrometodo e sistemi miniaturizzati (TSI AGAR, KLIGER; UREA API 20 E, API 32, ENTEROPLURITEST e TEST OXIDASE con VP). La conferma biochimica è stata eseguita contestualmente alla conferma sierologica, tranne per un laboratorio che non ha proceduto con la conferma sierologica e un altro laboratorio che invece non ha indicato di aver eseguito le prove di conferma.

5.2 Valutazione dei risultati

Controlli da C1 a C4

I controlli da C1 a C3, sono stati correttamente identificati da tutti e 13 laboratori partecipanti. Un laboratorio non ha eseguito il controllo C4 (controllo di processo APTS in assenza di matrice).

Campioni artificialmente contaminati da A1 ad A7

Per la **distribuzione 1**, il laboratorio ID 11 ha rilevato la presenza di Salmonella nel campione **A4** con MRM negativo. Tale risultato è considerato soddisfacente.

Per la **distribuzione 2**, il laboratorio ID 8 non ha identificato correttamente i campioni artificialmente contaminati A1 e A2 non rilevando la presenza nel campione **A1** (MRM S.Agbeni) e rilevando la presenza di Salmonella nel campione **A2** (MRM negativo). Tale risultato è contemplato nei limiti di accettabilità ed è considerato soddisfacente.

Per la **distribuzione 3**, il laboratorio ID 10 non ha identificato correttamente il campione artificialmente contaminato **A1** (MRM S.Agbeni). Tale risultato è considerato soddisfacente.

Si riportano le tabelle riepilogative dei risultati ottenuti.

Campione	Esito Atteso	Distribuzione 1			
		ID 1	ID 2	ID 3	ID 11
A/1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A/3	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/4	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	rilevato
A/5	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/6	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A/7	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

Campione	Esito Atteso	Distribuzione 2				
		ID 5	ID 6	ID 7	ID 8	ID 13
A/1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	non-rilevato	rilevato
A/2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	rilevato	non-rilevato
A/3	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/4	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/5	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A/6	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/7	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C1	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
C2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C3	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
C4	non-rilevato	non-eseguito	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato

Campione	Esito Atteso	Distribuzione 3			
		ID 4	ID 9	ID 10	ID 12
A/1	rilevato	rilevato	rilevato	non-rilevato	rilevato
A/2	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A/3	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato	non-rilevato
A/4	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/5	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/6	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato	rilevato
A/7	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 6 viene riportato l'elenco dei laboratori e relativo soddisfacimento dei criteri di accettabilità della performance.

ID	DISTRIBUZIONE	CONFORMITA' AI CRITERI DEFINITI PER I CONTROLLI	CONFORMITA' AI CRITERI DEFINITI PER I CAMPIONI POSITIVI	CONFORMITA' AI CRITERI DEFINITI PER I CAMPIONI NEGATIVI
1	1	OK	OK	OK
2	1	OK	OK	OK
3	1	OK	OK	OK
4	3	OK	OK	OK
5	2	OK	OK	OK
6	2	OK	OK	OK
7	2	OK	OK	OK
8	2	OK	OK	OK
9	3	OK	OK	OK
10	3	OK	OK	OK
11	1	OK	OK	OK
12	3	OK	OK	OK
13	2	OK	OK	OK

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

6. Conclusioni

Tutti i 13 laboratori partecipanti hanno soddisfatto i criteri minimi previsti, ottenendo una performance adeguata.

Due laboratori non hanno eseguito le prove di conferma, che si sottolinea essere parte integrante della procedura di isolamento e identificazione di *Salmonella* spp, come previsto dalla normativa di riferimento (UNI EN ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020).

Il Report Definitivo 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.

Il risultato conseguito rimane valido per tre anni dalla partecipazione, ovvero 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-numeriche (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. Provergono 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 26/11/2024

Responsabile del Circuito Interlaboratorio AQUA SA

 Dott.ssa Lisa Barco

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

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 26/11/2024*