

Modello di riferimento per i contributi alla Relazione del PNI per il 2019

Prove Interlaboratorio realizzate nel 2019 dai Laboratori Nazionali di Riferimento

Nome del LNR...Salmonella.. **Zoonosi (Salmonella) - Laboratorio Nazionale di Riferimento e**

Centro di Riferenza Nazionale.....

Sede...Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.....

Organizzazione generale delle prove interlaboratorio organizzate dal LNR/CRN Salmonellosi

Il laboratorio organizza ogni anno due tipologie di prove interlaboratorio. Una prova ha lo scopo di testare l'abilità dei laboratori partecipanti a rilevare/non rilevare la presenza di Salmonella spp. in matrici della produzione primaria; a tale prova partecipano sia i laboratori degli IIZZSS (Schema denominato SA4) sia i laboratori privati (Schema denominato SA3, due edizioni l'anno, "a" e "b" con lo scopo di soddisfare tutte le richieste pervenute). L'altra tipologia di prova ha lo scopo di testare l'abilità dei laboratori partecipanti di tipizzare in modo completo ceppi di Salmonella spp. selezionati dal LRN/CRN (Schema SA1), ovvero di identificare/escludere sierotipi di Salmonella spp. definiti rilevanti per la salute pubblica (schema SA2); a tale prova partecipano sia laboratori degli IIZZSS sia laboratori privati.

Per quanto riguarda in particolare lo schema SA3, esso è strettamente dipendente dall'esigenza dell'Autorità Competente Centrale di identificare e mantenere una lista di laboratori privati autorizzati ad effettuare analisi di campioni prelevati in autocontrollo nell'ambito del Piano Nazionale di Controllo per le Salmonellosi negli avicoli (PNCS); a tale scopo è stato istituito un gruppo di lavoro cui partecipano Ministero/ACCREDIA/COVEPI/LNR che definisce criteri e regole (compresa la validità dei risultati) in questo specifico contesto (vedi anche Regolamento 2160/2003).

L'organizzazione delle prove interlaboratorio da parte del LNR è basata su una piattaforma on-line dell'IZSVE denominata AQUA, che consente: la gestione di iscrizioni, la pubblicazione di documenti e avvisi e l'inserimento dei risultati da parte dei partecipanti.

Le prove interlaboratorio sono distribuite a titolo gratuito ai laboratori degli IIZZSS e a titolo oneroso ai laboratori privati (come da tariffario pubblicato sul sito dell'IZSVE).

Sul sito dell'IZSVE nelle pagine dedicate al LNR/CRN sono pubblicate tutte le informazioni relative alle prove interlaboratorio, con particolare riferimento agli schemi SA3 e 4 (che vedono un maggior numero di partecipanti ed il cui impatto sull'attività dei laboratori è significativa).

In generale l'organizzazione delle prove consiste in:

- pubblicazione nella parte pubblica del sito del calendario di tutte le prove (ogni anno, alla fine dell'anno antecedente l'anno cui si riferiscono le prove) con informazione in merito a finestra temporale utile per l'iscrizione e periodo di distribuzione dei test
- verifica delle iscrizioni da parte del LNR/CRN e conferma della partecipazione (in questa fase vengono anche gestite le criticità relative a laboratori che per qualche motivo non si sono iscritti in tempo oppure che pur iscritti decidono successivamente di non partecipare)
- pubblicazione sul portale AQUA dei documenti utili alla partecipazione, inclusa agenda
- reperimento del materiale da parte del LNR/CRN e allestimenti dei campioni di prova
- distribuzione dei test ai partecipanti

- download dal portale AQUA dei risultati inseriti dai partecipanti da parte del LRN/CRN
- pubblicazione sul portale AQUA del report parziale, ovvero del risultato atteso
- pubblicazione sul portale AQUA e successivamente sulle pagine pubbliche del sito IZSVE del report definitivo (per lo schema SA3, condivisione con il gruppo di lavoro)
- organizzazione e gestione di eventuali follow-up (per lo schema SA3, organizzazione di training residenziali da parte del LNR/CRN a titolo gratuito)
- aggiornamento e pubblicazione del report definitivo post follow-up.

Al fine di agevolare la comunicazione con i laboratori in questo contesto è stata inoltre istituita una casella di posta dedicata (crns.circuiti@izsvenezie.it).

Il dirigente responsabile delle prove è la Dott.ssa Cibir Veronica; il responsabile tecnico è la Dott.ssa Saccardin Cristina; è inoltre coinvolto altro personale sia tecnico che amministrativo per l'allestimento dei campioni di prova, la cura della parte documentale e dei rapporti con i partecipanti.

Di seguito vengono riportati i dettagli relativi alle prove interlaboratorio organizzate nel corso del 2019.

Isolamento e identificazione di *Salmonella* spp. da campioni prelevati a livello di produzione primaria - **Per laboratori privati – Schema SA3a-b**

Matrici: materiale fecale di origine avicola negativo per *Salmonella* spp.

Analiti: materiale di riferimento certificato che consiste in dischetti contenenti quantità note di *S. Typhimurium*/non contenenti alcun microrganismo (VITRODS™, <https://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/microbiology-products.html?TablePage=108303480>)

Luogo e periodo di svolgimento: I campioni di prova vengono distribuiti ai laboratori partecipanti che svolgono il test presso le loro sedi. Prima edizione marzo/maggio 2019; Seconda edizione settembre/novembre 2019

Numero e tipo di laboratori partecipanti: 43 laboratori privati in totale per le due edizioni

Follow up: Prima edizione: 4 laboratori hanno ottenuto risultati insoddisfacenti e 3 hanno partecipato al Follow-up, superandolo positivamente. Seconda edizione: 2 laboratori hanno ottenuto risultati insoddisfacenti e entrambi lo hanno superato positivamente.

La partecipazione al test di follow-up è in questo caso specifico subordinata all'effettuazione di un training residenziale presso i laboratori del LRN/CRN nel corso del quale vengono analizzate le difficoltà/criticità riscontrate nel corso dell'esecuzione della prova ed identificate strategie correttive

Isolamento e identificazione di *Salmonella* spp. da campioni prelevati a livello di produzione primaria - **Per laboratori IZZSS – Schema SA4**

Matrici: materiale fecale di origine avicola negativo per *Salmonella* spp.

Analiti: materiale di riferimento certificato che consiste in dischetti contenenti quantità note di *S. Typhimurium*/non contenenti alcun microrganismo (VITRODS™, <https://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/microbiology-products.html?TablePage=108303480>)

Luogo e periodo di svolgimento: I campioni di prova vengono distribuiti ai laboratori partecipanti che svolgono il test presso le loro sedi. Periodo di svolgimento ottobre/dicembre 2019.

Numero e tipo di laboratori partecipanti: I campioni di prova vengono distribuiti ai laboratori partecipanti che svolgono il test presso le loro sedi. 32 partecipanti

Follow up: Tutti i laboratori hanno superato positivamente il circuito e non c'è stato bisogno di follow-up.

Sierotipizzazione di *Salmonella* spp.

Per laboratori IZZSS e privati – Schema SA1

Matrici/Analiti: ceppi di *Salmonella* spp. appartenenti a differenti sierotipi (n. pari a 20), selezionati dal LRN/CRN a partire dal materiale inviato da EURL-Salmonella nel contesto di prove interlaboratorio

Luogo e periodo di svolgimento: I campioni di prova vengono distribuiti ai laboratori partecipanti che svolgono il test presso le loro sedi. Periodo di svolgimento febbraio/aprile 2019

Numero e tipo di laboratori partecipanti: 3 laboratori privati e 9 laboratori IZZSS

Follow up: Tutti i laboratori hanno superato positivamente il circuito e non c'è stato bisogno di follow-up.

Identificazione di ceppi di *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium e variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium - **Per laboratori IZZSS e privati – Schema SA2**

Matrici/Analiti: ceppi di *Salmonella* spp. appartenenti ai sierotipi *S. Typhimurium*, variante monofasica di *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e confondenti (n. pari a 10) selezionati dal LRN/CRN a partire dal materiale inviato da EURL-Salmonella nel contesto di prove interlaboratorio

Luogo e periodo di svolgimento: I campioni di prova vengono distribuiti ai laboratori partecipanti che svolgono il test presso le loro sedi. Periodo di svolgimento febbraio/aprile 2019

Numero e tipo di laboratori partecipanti: 3 laboratori privati e 2 laboratori IZZSS

Follow up: Tutti i laboratori hanno superato positivamente il circuito e non c'è stato bisogno di follow-up.

Valutazione complessiva dell'attività svolta e dei risultati ottenuti, con particolare riferimento alle principali criticità del sistema ed ai margini di miglioramento auspicabili.

Per quanto riguarda le prove interlaboratorio relative all'isolamento la gestione delle due edizioni comporta un notevole impegno per il LRN/CRN in particolare per quanto riguarda l'ambito organizzativo/gestionale. Alcune criticità che sono emerse sono riconducibili alla gestione centralizzata attraverso la piattaforma AQUA, tali criticità con impatto diretto sul LRN/CRN sono state identificate e veicolate alla responsabile della piattaforma con l'obiettivo di facilitare l'identificazione di strategie migliorative del sistema. Alcune criticità sono legate all'eccessiva flessibilità dei laboratori partecipanti concretizzabile con: mancata iscrizione nei tempi/modi richiesti ma necessità di partecipare comunicata attraverso canali diversi da quelli previsti; comunicazione della non volontà di partecipare solo a seguito della distribuzione dei campioni da parte del LRN/CRN (questo solo per i laboratori IZZSS); mancato utilizzo della piattaforma AQUA; errato utilizzo

della piattaforma AQUA e quindi ridondanze di iscrizioni, mancato aggiornamento dei dati anagrafici, problemi di accesso.

Per quanto riguarda la gestione del follow-up schema SA3, il LRN/CRN sta valutando di proporre delle modalità meno rigide, ovvero di valutare di volta in volta l'opportunità di un training formativo sulla base della tipologia di problematica emersa e risultati pregressi del laboratorio partecipante.

Un ulteriore spunto di riflessione riguarda in concreto la gestione dei campioni test, ovvero attualmente viene richiesto ai laboratori partecipanti di allestire in autonomia i campioni aggiungendo alla matrice il materiale di riferimento (dischetto); considerando che l'aspetto sfidante di questa prova è la matrice, l'eventualità che ciò venga by-passato, comporterebbe una riduzione sostanziale del livello di difficoltà del test e chiaramente maggiori probabilità di ottenere risultati soddisfacenti.

Sempre per quanto riguarda l'allestimento dei campioni test, il livello di difficoltà, basato sul livello di contaminazione, è anch'esso motivo di riflessione, in quanto vincolato alla disponibilità di materiale di riferimento reperibile sul mercato (attualmente il LRN/CRN considera il livello di contaminazione disponibile abbastanza elevato).

Al fine di rendere le prove più efficaci il LRN/CRN sta valutando di cambiare le modalità di allestimento dei campioni di prova, utilizzando lo stesso metodo del EURL-Salmonella. A tal scopo è stato chiesto al EURL di ospitare il personale tecnico del LRN/CRN per un training formativo affinché questo acquisisca la capacità di allestire i campioni prova con livello di analita più bassi rispetto agli attuali oltre che di by-passare la criticità dell'inquinamento della matrice da parte dei partecipanti.

Per quanto riguarda le prove interlaboratorio relative alla sierotipizzazione è stato chiesto di aggiornare lo schema SA2 per tener conto della necessità di alcuni partecipanti di dimostrare di essere in grado di identificare/escludere anche il sierotipo *S. Infantis*. Il LRN/CRN valuterà come gestire questa richiesta.

Valutazione complessiva dell'attività svolta relativa al quinquennio 2015-2019

L'attività di organizzazione e distribuzione delle prove interlaboratorio è di fondamentale importanza per la garanzia della qualità dei risultati analitici dei laboratori partecipanti, siano essi pubblici o privati.

Per quanto riguarda le salmonelle di interesse zoonosico la capacità dei laboratori di rilevare/non rilevare la presenza di *Salmonella* spp. in matrici della produzione primaria ovvero nei campioni prelevati nell'ambito del Piano Nazionale di Controllo delle Salmonellosi negli avicoli è requisito fondamentale (come previsto dal Regolamento 2160/2003) per garantire un adeguato livello di sicurezza alimentare.

Ne consegue che l'attività di sorveglianza sui laboratori che eseguono analisi in ambito PNCS, che si esplica anche attraverso la partecipazione a prove interlaboratorio organizzate dal LNR/CRN, è parte essenziale ed integrante del sistema dei controlli che hanno l'obiettivo di garantire la salute dei consumatori.

Nell'ultimo quinquennio, sulla base delle considerazioni di cui sopra, il LRN/CRN ha aumentato in modo considerevole l'attività indirizzata all'organizzazione delle prove interlaboratorio sia attraverso l'organizzazione di prove esclusivamente dedicate ai laboratori privati, sia attraverso l'ottimizzazione degli aspetti organizzativi al fine di aumentare la qualità dei test e la tracciabilità delle informazioni.

Le prove interlaboratorio organizzate dal LRN/CRN italiano sono state oggetto di presentazione al workshop annuale organizzato da EURL-Salmonella nel 2019; in tale occasione la Dott.ssa Cibin ha fornito i dettagli relativi alle caratteristiche e frequenze delle prove e ha ricevuto feedback molto favorevoli da parte sia del EURL che da parte degli altri LNR.

Negli ultimi 5 anni inoltre la partecipazione del LRN/CRN al tavolo tecnico voluto dal Ministero della Salute che prevede la partecipazione anche di ACCREDIA e COVEPI, ha permesso l'identificazione di strategie migliorative condivise mirate ad una più efficace sorveglianza dei laboratori con particolare riferimento ai laboratori privati.

Il LRN/CRN ha preso in carico di anno in anno le criticità evidenziate e ha messo in atto strategie per risolvere e per aumentare la qualità delle prove erogate sia dal punto di vista di campioni test sia dal punto di vista del servizio offerto. Per quanto riguarda i campioni test relativi alla prova “Sierotipizzazione” non si ravvedono modifiche sostanziali nell'immediato futuro, mentre saranno oggetto di rivalutazione i campioni test nell'ambito delle prove “isolamento”.

Sarò inoltre oggetto di valutazione futura l'introduzione di nuove prove relative ad analisi di sub-tipizzazione molecolare in seguito all'inevitabile avanzamento tecnologico e quindi alla dotazione da parte dei laboratori pubblici e privati di nuove tecniche di analisi, a fronte anche del fatto che l'esito di tali analisi viene utilizzato nell'ambito di indagini epidemiologiche sia a livello nazionale che internazionale.