



Circuito interlaboratorio
per l'assicurazione qualità
dei risultati



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

Report Definitivo Circuito AQUA SA 3a-21

Sommario

1. Introduzione	2
2. Laboratori Partecipanti.....	3
3. Materiali e metodi	3
3.1 Materiale di riferimento	3
3.2 Matrice.....	4
3.3 Spedizione del materiale	4
3.4 Documenti trasmessi ai laboratori partecipanti	5
4. Valutazione della performance e criteri di accettabilità	5
5. Risultati	6
5.1 Dati tecnici	6
5.2 Sintesi dei risultati.....	7
5.3 Valutazione della performance dei laboratori partecipanti	8
6. Conclusioni	9
Note	10
Riferimenti	10
Allegato 1 – Protocollo operativo	12

Indice Tabelle

Tab. 1 – Calendario attività	3
Tab. 2 - Allestimento campioni di prova.	5
Tab. 3 - Riepilogo metodi utilizzati	7
Tab. 4 -Tabella riassuntiva delle distribuzioni e della valutazione della performance sulla base dei criteri di accettabilità.	8

1. INTRODUZIONE

Uno dei principali compiti dei Centri di Referenza Comunitari e Nazionali, come stabilito anche dal Regolamento UE 2017/625 è quello di organizzare circuiti interlaboratorio al fine di valutare le performance analitiche dei laboratori partecipanti. Per quanto riguarda l'isolamento di *Salmonella* spp. in campioni di origine animale (produzione primaria), la necessità di garantire elevati standard qualitativi diviene un requisito fondamentale secondo le prescrizioni del Regolamento CE N. 2160/2003 e dei successivi emendamenti, che prevedono l'attuazione di piani nazionali di controllo finalizzati a ridurre la prevalenza di sierotipi rilevanti per la salute pubblica di *Salmonella* spp. in determinate specie animali destinate alla produzione di alimenti.

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.

Questo circuito di isolamento di *Salmonella* spp. da campioni di origine animale rappresenta il nono organizzato dal CRNS e dedicato esclusivamente ai laboratori privati, a seguito di quanto previsto dall'allegato 6 del "Piano Nazionale di Controllo delle Salmonellosi negli Avicoli 2019-2021" (PNCS) avente come oggetto la "procedura operativa per l'identificazione dei laboratori privati che intendono eseguire l'analisi dei campioni prelevati dagli OSA".

2. LABORATORI PARTECIPANTI

Al presente circuito SA3a-21, la prima edizione dell'anno, hanno preso parte 32 laboratori privati. Ciascun laboratorio è stato identificato con un codice numerico assegnato dal portale Aquaweb

Le attività pianificate nell'ambito del circuito sono state svolte secondo la tempistica definita nel calendario, anticipatamente inviato ai partecipanti e di seguito riportato (vedi tabella 1).

Scadenze	Attività
Entro il 28/02/2021	Scadenza iscrizione
Entro il 06/04/2021	Pubblicazione pianificazione e protocollo delle modalità operative.
Dal 26/04/2021 Al 30/04/2021	Spedizione del materiale ai laboratori coinvolti tramite corriere.
Dal 03/05/2021 Al 07/05/2021	Esecuzione del circuito
Entro il 21/05/2021	Inserimento dei risultati nel Test Report presente in AQUAWEB.
Entro lo 01/06/2021	Pubblicazione Report Parziale in Aquaweb con indicazione del risultato atteso

Tab. 1 – Calendario attività

3. MATERIALI E METODI

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

3.1 MATERIALE DI RIFERIMENTO

Per l'esecuzione del circuito è stato utilizzato materiale di riferimento certificato (Vitroids™), commercializzato dalla ditta SIGMA-ALDRICH S.r.l. Nello specifico sono stati impiegati dischetti "bianchi" (non contenenti alcun microrganismo) e dischetti di *Salmonella* Typhimurium (STM) con range di valore medio atteso di 80 -130 ufc.

Il materiale di riferimento è stato conservato dal CRNS a -20 ± 5 °C, temperatura che permette di garantirne la stabilità per lunghissimi periodi. In ogni caso il produttore garantisce la stabilità del prodotto anche in caso di esposizione a temperatura ambiente per brevi periodi.

Il materiale di riferimento destinato a ogni laboratorio partecipante è stato preparato siglando ciascuna provetta (contenente un singolo dischetto) con il codice identificativo di ogni campione di prova (da A1 ad A7 e da C1 a C2).

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

- 5 dischetti contenenti STM, di cui 4 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);
- 4 dischetti “bianchi” non contenenti *Salmonella* spp. di cui 3 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).

3.2 MATRICE

Ai laboratori partecipanti sono state inviate aliquote di circa 220 g di feci di pollo negative per *Salmonella* spp.

La negatività della matrice è stata verificata su 10 aliquote ottenute dal lotto originale della matrice dopo averla opportunamente omogenata.

Da ciascuna aliquota sono stati prelevati 25 g di campione e si è proceduto alla ricerca di *Salmonella* spp. secondo la metodica definita nel documento ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020.

Le analisi effettuate hanno confermato l'assenza di *Salmonella* spp. in tutte le aliquote testate.

Inoltre, sul materiale fecale, al momento dell'arrivo presso il CRNS, sono stati eseguiti due controlli, relativi alla quantificazione della Carica Mesofila Totale (procedura UNI EN ISO 4833-2_2013) e degli Enterobatteri (procedura UNI EN ISO 21528-2_2017).

I risultati delle analisi sono i seguenti: $4,7 \times 10^8$ ufc/g (carica mesofila totale) e $2,8 \times 10^5$ ufc/g (*Enterobacteriaceae*).

Le aliquote di feci destinate ai singoli partecipanti sono state conservate in sacchetti sigillati, mantenuti a temperatura di congelamento (≤ 18 °C) fino al momento della spedizione.

3.3 SPEDIZIONE DEL MATERIALE

Il materiale per l'esecuzione del circuito, di cui ai punti precedenti, è stato inviato secondo la classificazione BIOL.SUB.CAT.B UN 3373, richiedendo il mantenimento della temperatura a -20 °C.

Il materiale è stato consegnato ai partecipanti nella settimana dal 26 al 30 aprile 2021, come previsto.

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

3.4 DOCUMENTI TRASMESSI AI LABORATORI PARTECIPANTI

A ciascun laboratorio partecipante sono stati resi disponibili nel gestionale AQUAWEB, anticipatamente rispetto all'esecuzione delle analisi, la pianificazione e il protocollo operativo (Allegato 1), 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	DISCHETTO	FECI 25g
A1	SI	SI	SI
A2	SI	SI	SI
A3	SI	SI	SI
A4	SI	SI	SI
A5	SI	SI	SI
A6	SI	SI	SI
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 dischetti per allestire i campioni prova (siglati da A1 ad A7) e i controlli (siglati da C1 a C2) sono stati inviati ai laboratori secondo cinque distribuzioni diverse (ovvero per ogni distribuzione si mantiene lo stesso numero di campioni positivi e negativi secondo un ordine diverso).

4. VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE E CRITERI DI ACCETTABILITÀ

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, pubblicato in data 03/06/2021 (Allegato 3).

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

5. RISULTATI

5.1 DATI TECNICI

I dati tecnici sono stati riportati da tutti gli 32 laboratori che hanno inviato il test report.

Per quanto riguarda il metodo utilizzato:

- 20 laboratori hanno utilizzato esclusivamente il metodo ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020;7 laboratori (L000452-L000492- L000474- L000516- L000578- L000612- L000672) oltre al metodo di cui alla UNI ENI ISO 6579-1:2017, hanno utilizzato anche un metodo alternativo;5 laboratori (L000369-L000491- L000584- L000651- L000754) hanno usato solo un metodo alternativo; un solo laboratorio (L000492) ha utilizzato oltre alla metodica ISO6579-1:2017/Amd 1:2020 anche due metodi alternativi.

Nella tabella 3 si fornisce un riepilogo dei metodi utilizzati da ciascun laboratorio partecipante.

CODICE LABORATORIO AQUA	METODO ISO 6579-1:2017	METODO ALTERNATIVO 1	METODO ALTERNATIVO 2
L000324	X		
L000346	X		
L000356	X		
L000369		X	
L000452	X	X	
L000474	X	X	
L000491		X	
L000492	X	X	X
L000502	X		
L000516	X	X	
L000578	X	X	
L000584		X	
L000587	X		
L000592	X		
L000593	X		
L000608	X		
L000612	X	X	
L000614	X		
L000623	X		
L000651		X	
L000672	X	X	
L000713	X		
L000724	X		
L000728	X		
L000736	X		
L000737	X		
L000746	X		
L000749	X		
L000754		X	
L000757	X		
L000776	X		
L000873	X		

Tab. 3 - Riepilogo metodi utilizzati

Tutti i laboratori hanno rapidamente posto il materiale alla temperatura di conservazione indicata; il massimo tempo intercorso tra la ricezione del materiale e lo stoccaggio è stata di due ore (laboratorio L000346).

Due laboratori invece hanno erroneamente indicato la data di ricevimento nel mese di maggio.

Dai dati inviati emerge che la maggior parte dei laboratori ha eseguito il test nella settimana indicata (dal 3 al 7 maggio), tranne i laboratori L000873- L000776 che hanno eseguito il test nella settimana di arrivo del circuito.

5.2 SINTESI DEI RISULTATI

Controlli da C1 a C4

Tutti laboratori, ad eccezione del laboratorio L000369 di cui si dettaglia di seguito, hanno identificato correttamente i controlli da C1 a C4, tale risultato è soddisfacente.

Il laboratorio L000369 non ha rilevato la presenza di *Salmonella* spp. nel campione controllo C1.

Tale risultato è considerato NON soddisfacente.

Campioni da A1 ad A7

Per la distribuzione n. 4 due laboratori non hanno rilevato la presenza di *Salmonella* spp. in un campione positivo: il lab. L000502 non ha identificato correttamente il campione A1; il Lab.L000623 non ha identificato correttamente il campione A2. Il risultato è considerato soddisfacente.

Il laboratorio L000736 (distribuzione 1) non ha identificato la presenza di *Salmonella* spp. in quattro campioni positivi (A4; A5, A6 e A7). Tale risultato è considerato NON soddisfacente.

Non si sono riscontrate discordanze di risultati ottenuti dai laboratori che hanno utilizzato in parallelo due metodi .

5.3 VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE DEI LABORATORI PARTECIPANTI

In tabella 4 viene riportato l'elenco dei laboratori e relativo soddisfacimento dei criteri di accettabilità della performance.

CODICE LABORATORIO AQUAWEB	DISTRIBUZIONE	CONFORMITA' AI CRITERI DEFINITI PER I CONTROLLI	CONFORMITA' AI CRITERI DEFINITI PER I CAMPIONI POSITIVI	CONFORMITA' AI CRITERI DEFINITI PER I CAMPIONI NEGATIVI
L000324	1	OK	OK	OK
L000346	2	OK	OK	OK
L000356	3	OK	OK	OK
L000369	4	NO	OK	OK
L000452	5	OK	OK	OK
L000474	1	OK	OK	OK
L000491	2	OK	OK	OK
L000492	3	OK	OK	OK
L000502	4	OK	OK	OK
L000516	5	OK	OK	OK
L000578	1	OK	OK	OK
L000584	2	OK	OK	OK
L000587	3	OK	OK	OK
L000592	4	OK	OK	OK
L000593	5	OK	OK	OK
L000608	1	OK	OK	OK
L000612	2	OK	OK	OK
L000614	3	OK	OK	OK
L000623	4	OK	OK	OK
L000651	5	OK	OK	OK
L000672	1	OK	OK	OK
L000713	2	OK	OK	OK
L000724	4	OK	OK	OK
L000728	5	OK	OK	OK
L000736	1	OK	NO	OK
L000737	2	OK	OK	OK
L000746	3	OK	OK	OK
L000749	4	OK	OK	OK
L000754	5	OK	OK	OK
L000757	1	OK	OK	OK
L000776	2	OK	OK	OK
L000873	3	OK	OK	OK

Tab. 4 -Tabella riassuntiva delle distribuzioni e della valutazione della performance sulla base dei criteri di accettabilità.

6. CONCLUSIONI

Dei 32 laboratori partecipanti a questa prima edizione del circuito SA3 del 2021, 30 laboratori hanno soddisfatto i criteri minimi previsti, per 28 di questi la performance è stata ottimale (tutti i campioni sono stati classificati correttamente). Due laboratori (L000736 e L000369) non hanno soddisfatto i criteri minimi di accettabilità, di conseguenza per questi la performance è da ritenersi non soddisfacente.

I laboratori che non hanno ottenuto risultati soddisfacenti verranno contattati individualmente ed informati sulle modalità e tempi relativi ai controlli di follow-up.

I risultati del circuito (Report definitivo), con il dettaglio relativo ai laboratori partecipanti, verranno inviati 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 è subordinata all'esito del circuito di follow-up.

Il presente Report definitivo verrà quindi aggiornato a seguito delle nuove evidenze acquisite con i controlli di follow-up.

Il risultato conseguito nel presente circuito rimane valido fino al 31 dicembre 2024.

NOTE

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

- 2) Tutti gli operatori dell'Organizzazione del circuito interlaboratorio AQUA MA sono tenuti alla riservatezza sia relativamente alla identità dei partecipanti, sia alle informazioni intercorse.

RIFERIMENTI

Responsabile Circuito interlaboratorio isolamento-identificazione SA3

Dott.ssa Lisa Barco

e-mail lbarco@izsvenezie.it

Responsabile tecnico Circuito interlaboratorio isolamento-identificazione SA3

Dott.ssa Cristina Saccardin Tel. 049 8084283

e-mail csaccardin@izsvenezie.it

Responsabile del Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi

Dott.ssa Lisa Barco

Il presente report è a cura di

Lisa Barco, Cristina Saccardin, Marta Leati.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

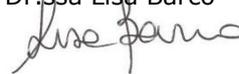
OIE CRN-Salmonellosi

V.le dell'Università 10 - 35020 LEGNARO (PD)

<http://www.izsvenezie.it>

Responsabile Circuito Interlaboratorio Aqua

Dr. ssa Lisa Barco



----- fine report definitivo-----

ALLEGATO 1 – PROTOCOLLO OPERATIVO

Circuito Interlaboratorio Isolamento e Identificazione di *Salmonella* spp.

Edizione Laboratori privati schema SA3a-2021.

PROTOCOLLO

1. Obiettivi

Il presente circuito interlaboratorio, relativo all'isolamento di *Salmonella* spp., è organizzato dal Centro di Riferenza Nazionale per le Salmonellosi (CRNS) con lo scopo di testare la competenza dei laboratori partecipanti nell'identificazione di *Salmonella* spp. in campioni di origine animale prelevati a livello di produzione primaria.

I laboratori dovranno impiegare la metodica utilizzata di routine per analizzare i campioni prelevati nell'ambito del Piano Nazionale di Controllo delle Salmonellosi negli avicoli (metodo di cui alla ISO 6579-1:2017/AMD 1:2020 e/o metodo alternativo validato in accordo alla ISO 16140, come indicato nel punto 4.2 del Piano stesso). Nel test report dovranno essere riportati i risultati ottenuti con tutti i metodi utilizzati anche se completamente sovrapponibili.

Per la preparazione dei campioni da sottoporre ad indagine è utilizzato materiale di riferimento certificato, che consiste in dischetti contenenti un livello noto di un sierotipo noto di *Salmonella* spp. e in dischetti "bianchi" ovvero non contenenti alcun microrganismo; inoltre è utilizzato materiale fecale di origine avicola negativo per *Salmonella* spp.

In particolare, per quanto riguarda il Materiale di Riferimento Certificato (MRC-Vitroids™), questo viene distribuito da Sigma-Aldrich (per maggiori dettagli: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/microbiology-products.html?TablePage=108303480>).

I laboratori dovranno allestire i campioni di prova provvedendo a contaminare le feci negative per *Salmonella* spp. con il Materiale di Riferimento fornito dal CRNS. Inoltre dovranno allestire ed analizzare dei campioni di controllo la cui composizione è descritta in dettaglio di seguito.

Il materiale trasmesso ai laboratori sarà confezionato in un contenitore di plastica contenente 1 sacchetto con circa 220 grammi di feci di pollo negative per *Salmonella* spp. e un sacchetto con 9 vials contenenti il MRC.

In particolare:

sacchetto 1: Materiale di riferimento: vials contenenti dischetti da conservare a $-20^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$:

- 7 vials per la preparazione dei campioni numerate da A1 a A7;
- 2 vials di controllo (numerazione C1, C2) per la preparazione dei controlli C1 e C2.

sacchetto 2: feci da conservare tra $+2^{\circ}\text{C}$ e $+8^{\circ}\text{C}$:

La matrice feci dovrà essere utilizzata per allestire i campioni di prova (da A1 ad A7) ed il campione di controllo matrice (C3); come descritto al punto 2.

Il materiale sarà inviato a ciascun partecipante tramite corriere.

I laboratori coinvolti dovranno contattare urgentemente il CRNS in caso di mancato recapito del materiale entro 3 giorni lavorativi dalla data di spedizione prevista e segnalare all'organizzatore al più presto eventuali problemi riscontrati all'apertura delle confezioni.

Il CRNS non garantisce la possibilità di gestire in modo efficace segnalazioni tardive.

2. Modalità operative

Ciascun laboratorio esaminerà 11 campioni di cui 7 campioni di prova identificati da A1 ad A7 e 4 controlli identificati da C1 a C4.

La preparazione dei campioni da **A1 ad A7** prevede dapprima l'allestimento dei contenitori siglati con APTS, successivamente l'aggiunta del dischetto ed infine l'aggiunta di 25 grammi di matrice ottenuti dal sacchetto 2.

I controlli comprendono: 2 controlli, **C1** e **C2**, da allestire aggiungendo all'APTS un dischetto; un controllo, **C3**, definito come "controllo matrice", da allestire aggiungendo all'APTS solo la matrice feci (senza aggiunta di dischetto) ed il controllo, **C4**, che consiste solo nell'APTS.

I terreni/ Kit o reagenti necessari ai fini dello studio NON verranno forniti dal CRNS.

2.1 Pre-arricchimento (giorno 1)

➤ Preparazione campioni e controlli (C1, C2, C3 e C4)

Preparare 11 sacchetti (o altro contenitore) sterili da siglare da A1 ad A7 e da C1 a C4 e aggiungere 225 ml di APTS a temperatura ambiente a ciascun contenitore.

Nel caso in cui il metodo alternativo preveda nella fase di arricchimento di non utilizzare APTS ma altro *medium* procedere come da metodo alternativo con l'accortezza di segnalare la tipologia di *medium* utilizzato nel campo note del test report.

➤ Fase di contaminazione

Porre a temperatura ambiente le vials (A1-A7; C1; C2) contenenti i dischetti circa 15 minuti prima di addizionarle ai contenitori con APTS precedentemente allestiti.

Aggiungere il dischetto contenuto in ciascuna vial al corrispondente contenitore precedentemente siglato; lasciare dissolvere i dischetti per circa 15 minuti, in termostato, a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, quindi agitare manualmente il contenuto di ciascun contenitore.

I dischetti si dissolvono completamente molto rapidamente.

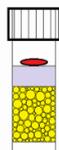
Eventuali anomalie in questa fase vanno segnalate nel Test Report.

➤ Fase aggiunta matrice

Aggiungere 25 g di feci prelevate dal sacchetto 2 a tutti i contenitori **tranne che a quelli siglati C1, C2 e C4.**

! Si raccomanda di rispettare scrupolosamente la corrispondenza numerica contenitore- dischetto! Non aggiungere feci ai sacchetti C1, C2 e C4.

! Omogeneizzare delicatamente manualmente.



! I dischetti sono di colore rosso e dimensione estremamente ridotta, porre attenzione durante la manipolazione.

Ai controlli C3 e C4 non andrà aggiunto alcun dischetto

Tabella riassuntiva allestimento campioni di prova:

Campione di prova	APTS 225 ml	DISCHETTO	FECI 25g
A1	SI	SI	SI
A2	SI	SI	SI
A3	SI	SI	SI
A4	SI	SI	SI
A5	SI	SI	SI
A6	SI	SI	SI
A7	SI	SI	SI
C1	SI	SI	NO
C2	SI	SI	NO
C3	SI	NO	SI
C4	SI	NO	NO

Porre tutti i contenitori in termostato a 37 ± 1 °C per 18 ± 2 h. Registrare la temperatura ed il tempo all'inizio e alla fine del periodo di incubazione previsto. Nel caso di utilizzo di metodo alternativo procedere come previsto dal metodo stesso.

Terminata la fase di incubazione i campione e i controlli sono esaminati secondo il metodo in uso presso ciascun laboratorio partecipante.

N.B: I laboratori dovranno avere cura di registrare tutti i dati relativi a tempo e temperatura di incubazione per ciascun terreno utilizzato e conservarli in caso di necessità di follow-up.

Il circuito deve essere effettuato da tutti i laboratori coinvolti nella settimana del 3-7 maggio 2021.

In **AQUAWEB**, sezione "schema SA3-21" sono pubblicati i documenti:

- Pianificazione
- Protocollo

La **Scheda di sicurezza** dei campioni inviati è disponibile nel sito dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (<http://www.izsvenezie.it/servizi/circuito-interlaboratorio-aqua/>)

3. Trasmissione dei risultati

Al termine delle prove, inserire i risultati nel Test Report SA3a-2021 presente in AQUAWEB entro e non oltre il **21/05/2021**.

Oltre che all'esito per ciascun campione in termini di presenza/assenza, nel Test Report dovranno essere riportate le seguenti informazioni:

- data e ora ricevimento materiale ed inizio conservazione
- metodo utilizzato
- data inizio/fine test

Sarà inoltre disponibile un campo note dove poter fornire informazioni aggiuntive qualora ritenute utili.

Nessuna altra modalità di trasmissione dei risultati potrà essere accettata e dopo la data indicata il Test Report non sarà più accessibile.

L'esito del Circuito da parte del CRNS prevede la pubblicazione in AQUAWEB del **report parziale** in cui è riportato il risultato atteso per ciascun campione di prova; tale report parziale verrà pubblicato entro il **01/06/2021**.

Dr.ssa Lisa Barco

Dr.ssa Cristina Saccardin
CRNS.circuiti@izsvenezie.it

Tel. 049 8084283-163