



PROTOCOLLO PER L'ESECUZIONE DI PROVA VALUTATIVA

RICERCA DI TRICHINELLA NELLE CARNI

DISTRIBUZIONE 01/2020

Ente promotore:	Regione Emilia-Romagna Servizio Veterinario e Igiene degli Alimenti Via A. Moro, 21 40127 Bologna
Ente organizzatore:	Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia ed Emilia Romagna Sede Territoriale di Bologna Via P.Fiorini,5 40127 Bologna (BO)
Esperto statistico e Referente informatico:	Dr. Marco Tamba marco.tamba@izsler.it Tel. 051 4200032
Esperti tecnici:	Dr.ssa Maria Cristina Fontana mariacristina.fontana@izsler.it Tel. 051 4200011
Collaboratori tecnici:	Mattia Ramini mattia.ramini@izsler.it Tel. 051 4200011

INDICE

OBIETTIVI DEL CIRCUITO	3
DEFINIZIONI	3
RIFERIMENTI	3
DESCRIZIONE DEL CIRCUITO	3
PROCEDIMENTO	4
INVIO RISULTATI	5
ANALISI STATISTICA	5

Obiettivi del circuito

- Valutare la capacità di ciascun laboratorio di individuare correttamente campioni positivi a basso livello di contaminazione.
- Valutare la capacità di recupero dei laboratori rispetto al livello di contaminazione effettivo
- monitorare nel tempo i livelli di competenza tecnica dei laboratori
- Consentire a ciascun laboratorio di familiarizzare con le procedure di decontaminazione del materiale e della vetreria in caso di riscontro di un campione positivo

Il laboratorio di Diagnostica della sede Territoriale di Bologna dell'IZSLER organizza tale circuito per il monitoraggio delle prestazioni dei laboratori annessi ai macelli della regione Emilia-Romagna su mandato della stessa e per il monitoraggio dei laboratori IZSLER della medesima regione.

Poiché le modalità di gestione del circuito e le modalità di allestimento dei campioni sono analoghe a quelle del Laboratorio Europeo di Riferimento per i Parassiti si ritiene tale circuito equivalente a quello organizzato dall'EURL.

La gestione del circuito, a partire dalla preparazione dei campioni, alle modalità di gestione dei dati, di valutazione degli esiti, e di comunicazione sono eseguite in piena conformità alla norma ISO/IEC 17043:2010 – Conformity assessment. General requirements for proficiency testing

Definizioni

Campione: aliquota di materiale (muscolo macinato di suino/equino/altra specie recettiva) da sottoporre a prova inviata ai laboratori partecipanti.

Metodo di prova: procedura tecnica specificata per eseguire una prova. In questo circuito sono ammessi i laboratori che eseguono i seguenti metodi di prova:

- Digestione Automatica (Trichomatic) Reg. CE 1375/2015 All.1 cap. II punto C
- Digestione Artificiale di campioni aggregati (Agitatore magnetico) Reg. CE 1375/2015 All.1 cap. I
- Altro metodo identificato dal Regolamento (CE) n. 1375/2015

Riferimenti

- ISO/IEC 17043:2010 – Conformity assessment. General requirements for proficiency testing;
- Regolamento di esecuzione (UE) n. 1375/2015 che definisce norme specifiche applicabili ai controlli ufficiali relativi alla presenza di Trichine nelle carni.
- Regolamento (UE) 2017/625 Controlli ufficiali e altre attività ufficiali effettuati per garantire l'applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi, delle norme sulla salute e sul benessere degli animali, sulla sanità delle piante nonché sui prodotti fitosanitari.

Descrizione del Circuito

Laboratori partecipanti

Il Circuito interlaboratorio è indirizzato ai laboratori designati a svolgere le analisi ai sensi del Regolamento UE 1375/2015, art 2, secondo le indicazioni fornite dalla scrivente Regione Emilia Romagna.

Attualmente sul territorio di questa regione i laboratori designati sono:

- laboratori presso impianti di macellazione con sede in Emilia Romagna
- laboratori delle sedi territoriali dell'IZSLER della regione Emilia Romagna accreditati per la prova oggetto del circuito

Modalità di iscrizione attraverso il sito dell'IZSLER

E' stato attivato un apposito sito (<http://ringtest.izsler.it>) per la gestione dei circuiti interlaboratorio organizzati dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna.

A tutti i laboratori coinvolti, direttamente se appartenenti alle sezioni IZSLER dell'Emilia-Romagna o indirettamente attraverso i Responsabili dei Servizi Veterinari se laboratori presso impianti di macellazione o laboratori A.USL, viene comunicato l'invito a partecipare al circuito interlaboratorio.

L'iscrizione al circuito interlaboratorio viene effettuata direttamente sul sito mediante inserimento dei dati identificativi del laboratorio.

L'utente accederà al sito mediante username e password per scaricare il materiale informativo, inserire i risultati e consultare il report finale.

La password rimane la stessa per tutti i circuiti interlaboratorio futuri, a meno che l'utente non decida di modificarla.

Identificazione dei Laboratori partecipanti

Al fine di garantire la massima riservatezza, i Laboratori vengono identificati con un codice numerico univoco. Il codice viene generato automaticamente e reso noto al momento della registrazione del laboratorio nel sistema. L'identificativo del laboratorio rimane lo stesso per tutti i circuiti interlaboratorio futuri.

Sull'etichetta di ogni campione è riportato il codice del laboratorio ed un numero identificativo del campione stesso.

Ogni comunicazione inoltrata, sia da parte del laboratorio organizzatore che da parte del laboratorio partecipante, dovrà fare riferimento al codice di laboratorio attribuito.

Riservatezza

I dati, trattati in forma confidenziale e riservata, vengono utilizzati dal laboratorio organizzatore esclusivamente per l'analisi e la valutazione dei risultati.

I risultati potranno essere messi a disposizione del Ministero della Salute, dei Servizi Veterinari Regionali e dei Servizi Ispettivi e di audit dell'Unione Europea, in forma anonima oppure palese, previa richiesta ai laboratori partecipanti.

Preparazione e fornitura dei campioni da esaminare

Campioni Negativi: muscolo di specie recettiva macinato proveniente da animali che hanno dato esito negativo alla ricerca di trichinella.

Campioni positivi: muscolo di specie recettiva macinato proveniente da animali che hanno dato esito negativo alla ricerca di trichinella contaminati in laboratorio con larve vitali di *Trichinella spiralis*.

Per i laboratori che eseguono il test su carni equine i campioni sono preparati a partire da muscolo di equino macinato.

Alle Sezioni IZSLER sarà inviato un set di campioni comprendente campioni a base di carne di specie recettive. I campioni, identificati singolarmente con codice numerico, vengono inviati tramite corriere interno IZSLER in contenitori sigillati in condizioni di refrigerazione alle sezioni IZSLER dell'Emilia Romagna; i laboratori provvederanno al ritiro dei campioni da analizzare presso la sezione territoriale di riferimento a partire dal **12 ottobre 2020**.

I campioni dovranno essere analizzati entro il 18/10/2019.

In parallelo presso il laboratorio organizzatore vengono condotte prove di stabilità dei campioni preparati per il circuito interlaboratorio.

Composizione del pannello di campioni

ATTENZIONE: i campioni positivi sono contaminati con larve vitali di *Trichinella spiralis*, e sono quindi potenzialmente infestanti. Utilizzare i DPI (Dispositivi di Protezione Individuale) del caso e rispettare le norme di sicurezza previste dal laboratorio.

Per i laboratori annessi a macello la prova è svolta con la supervisione di un veterinario Ufficiale della ASL.

- Ciascun laboratorio interessato dovrà analizzare i 3 campioni per ciascuna metodica prescelta al momento dell'iscrizione.
- I campioni saranno contenuti in un contenitore sigillato, opportunamente identificato e distribuito in modo casuale.
- Il numero identificazione del campione andrà registrato perché sarà necessario nella fase di refertazione
- In attesa delle analisi i campioni dovranno essere conservati ad una temperatura di $5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$
- Si suggerisce di testare i campioni in un giorno o in una parte della giornata in cui non siano in corso analisi di routine nel laboratorio.

Procedimento:

- I campioni da saggiare con il metodo dell'Agitatore magnetico sono del peso di 100 grammi. Considerare come un aggregato di 100 campioni di suino o di 20 campioni di equino o di specie recettiva diversa dal suino. I campioni sono già macinati. **NON DEVONO QUINDI ESSERE PESATI E MACINATI**, ma direttamente sottoposti alla fase di digestione.
- In caso di campioni da saggiare con il metodo della Digestione Automatica (Trichomatic) questi sono del peso di 35 grammi. Considerare come un aggregato di 35 campioni di suino o di 7 campioni di equino o di specie recettiva diversa dal suino. I campioni sono già macinati. **NON DEVONO QUINDI ESSERE PESATI E MACINATI**, ma direttamente sottoposti alla fase di digestione.

- I singoli campioni NON DEVONO ESSERE FRAZIONATI, ma vanno analizzati integralmente. Assicurarsi che non permangano residui di campione nel contenitore risciacquandolo eventualmente con il liquido di digestione.
- **A tutti i laboratori viene richiesta la numerazione delle larve presenti nei campioni positivi.**
- Al fine di evitare cross-contaminazione fra i campioni, assicurarsi, a seconda del metodo di prova utilizzato, che vetreria e strumentazione siano adeguatamente decontaminati e puliti prima del riutilizzo.
- A fine sessione di prova trattare i liquidi di digestione positivi, vetreria e strumentazione secondo quanto indicato dal Regolamento UE 1375/2015, Allegato I per i diversi metodi di prova.

Registrazioni presso il laboratorio:

Si ricorda ai laboratori partecipanti di mantenere traccia scritta delle operazioni di analisi: data di esecuzione, reagenti utilizzati, operatori coinvolti, valutazione dei risultati ottenuti ecc., analogamente a quanto predisposto per le prove routinarie.

INVIO DEI RISULTATI

L'inserimento dei risultati deve avvenire tramite il sito (<http://ringtest.izsler.it>) appositamente predisposto. Per le singole prove è previsto un menu a tendina con esiti precodificati:

- Positivo/Negativo/Non esaminato
- In caso di esito positivo inserire il numero delle larve rilevate
- In caso di esito negativo inserire il numero delle larve pari a 0

A fine inserimento dei risultati è possibile

- “salva senza invio”: i risultati sono salvati, ma ancora modificabili.
- “chiudi ed invia”: i risultati non sono più modificabili.

I risultati devono essere inseriti e inviati entro il giorno **21 ottobre 2020.**

I laboratori riceveranno una mail di avvertimento per l'inserimento 5 giorni prima della chiusura prevista del circuito interlaboratorio.

Entro 15 giorni dalla conclusione della prova verrà pubblicato sul sito (<http://ringtest.izsler.it>) la composizione dei campioni

Entro 30 giorni dalla conclusione della prova verrà pubblicato sul sito il report finale.

I laboratori partecipanti riceveranno una mail di avviso per ogni documento che verrà pubblicato sul sito.

Valutazione del laboratorio e Analisi statistica

- I risultati di tipo qualitativo saranno elaborati in base alla corretta/errata identificazione dei campioni positivi e negativi (accuratezza).
- I dati inviati relativi alle conte delle larve eseguite sui campioni positivi saranno elaborati in modo da ottenere una classificazione dei laboratori sulla base delle percentuali di recupero (larve rinvenute / larve introdotte nel campione %).