

Assessorato Politiche per la Salute  
Servizio Prevenzione collettiva e sanità pubblica



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA-ROMAGNA  
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

# PROTOCOLLO PER L'ESECUZIONE DI PROVA VALUTATIVA

## RICERCA DI TRICHINELLA NELLE CARNI

### DISTRIBUZIONE 01/2018

Ente promotore: Regione Emilia-Romagna  
Servizio Prevenzione collettiva e sanità pubblica  
Via A. Moro, 21  
40127 Bologna

Ente organizzatore: Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia ed Emilia Romagna  
Sezione Diagnostica di Bologna  
Via P.Fiorini,5  
40127 Bologna (BO)

Esperto statistico e Referente informatico: Dr. Marco Tamba [marco.tamba@izsler.it](mailto:marco.tamba@izsler.it)  
Tel. 051 4200032

Esperti tecnici: Dr. Giuseppe Merialdi [giuseppe.merialdi@izsler.it](mailto:giuseppe.merialdi@izsler.it)  
Dr.ssa Maria Cristina Fontana [mariacristina.fontana@izsler.it](mailto:mariacristina.fontana@izsler.it)  
Tel. 051 4200011  
Fax 051 4200038

Collaboratori tecnici: Mattia Ramini

## 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

## **Definizioni**

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

**Metodo di prova:** procedura tecnica specificata per eseguire una prova. In questo circuito i laboratori seguono i 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 (CE) n. 1375/2015 Norme specifiche applicabili ai controlli ufficiali relativi alla presenza di Trichine nelle carni.

## **Descrizione del Circuito**

### **Laboratori partecipanti**

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

Attualmente sul territorio di questa regione i laboratori designati sono:

- 1) laboratori presso impianti di macellazione
- 2) laboratori delle sezioni provinciali dell' IZSLER 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 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 **13 ottobre 2018**.

### **I campioni dovranno essere analizzati entro il 22/10/2018**

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.

- 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.
- I campioni da saggiare con il metodo della Digestione Automatica (Trichomatic) 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 CE 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 **28 ottobre 2018**.

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 %).