



REPORT FINALE DI PROVA VALUTATIVA

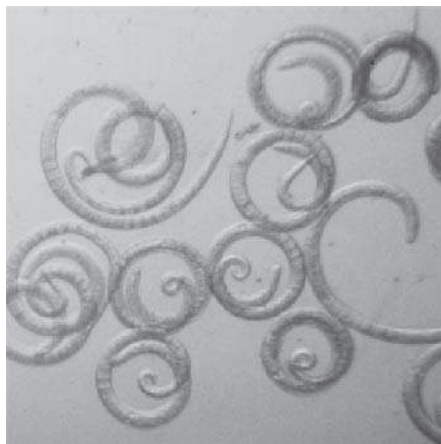
RICERCA DI TRICHINELLA NELLE CARNI

DISTRIBUZIONE 01/2017

Ente promotore:	Regione Emilia-Romagna Servizio prevenzione collettiva e sanità pubblica Via A. Moro, 21 40127 Bologna (BO)
Ente organizzatore:	Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia ed Emilia Romagna Sezione Diagnostica di Bologna Via P. Fiorini,5 40127 Bologna (BO)
Referente Ente promotore:	Dr. Stefano Benedetti StBenedetti@Regione.Emilia-Romagna.it Tel. 051 5277383 Fax 051 5277064
Esperto statistico e Referente informatico:	Dr. Marco Tamba marco.tamba@izsler.it Tel. 051 4200032
Esperti tecnici:	Dr. Giuseppe Merialdi giuseppe.merialdi@izsler.it Dr.ssa Maria Cristina Fontana mariacristina.fontana@izsler.it Tel. 051 4200011 Fax 051 4200038
Collaboratore tecnico:	Mattia Ramini mattia.ramini@izsler.it

INDICE

1. Introduzione	Pag	3
2. Materiali e metodi		3
2.1. Preparazione dei campioni		3
2.1.1. Campioni negativi		3
2.1.2. Campioni positivi		3
2.2. Confezionamento e distribuzione		3
2.3. Omogeneità e stabilità dei campioni		4
3. Analisi e valutazione dei risultati		4
4. Riservatezza		4
5. Presentazione dei risultati		4
6. Conclusioni		4
Tabella A: Decodifica dei campioni esaminati		5
Tabella B: Agitatore magnetico. Risultati dei Laboratori partecipanti		6
Tabella C: Agitatore Magnetico. Valori di recupero sui campioni positivi ottenuti dai Laboratori partecipanti		7
Tabella D: Risultati comparativi sulla ricerca delle larve ottenuti dai Laboratori partecipanti sui campioni positivi Metodo dell'Agitatore Magnetico		8
Figura 1: Grafico delle differenze tra le larve presenti e le larve rinvenute nei campioni positivi		9



Nel presente rapporto il tuo laboratorio è individuato dal numero: _____

1. Introduzione

L'articolo 5 del Reg. (UE) n. 1375/2015 del 10 agosto 2015 che definisce norme specifiche applicabili ai controlli ufficiali relativi alla presenza di Trichine nelle carni sancisce che tutto il personale coinvolto nell'esame sia adeguatamente formato e partecipi ad un programma di controllo della qualità delle analisi e sia sottoposto a valutazione regolare delle procedure di registrazione e di analisi utilizzate nel laboratorio.

A tale scopo la Regione Emilia-Romagna, in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, organizza con cadenza annuale una prova valutativa obbligatoria per i laboratori designati della Regione.

Copia del presente Report è disponibile sia nella sezione Trichinella del sito regionale Alimenti&Salute (http://www.alimenti-salute.it/categorie_mat.php?id=24) sia, con accesso riservato ai soli laboratori iscritti, sul sistema informatico <http://ringtest.izsler.it/>

2. Materiali e Metodi

2.1 Preparazione dei campioni

Per ogni laboratorio aderente al circuito è stato preparato un set di 3 campioni per il metodo di rilevamento (Agitatore Magnetico) indicato dal Laboratorio iscritto nella Scheda di adesione attivata sul sistema informatico <http://ringtest.izsler.it/>.

Ogni set risultava composto da:

- 1 campione negativo
- 1 campione negativo positivo a livello di contaminazione basso (range 3-6 larve)
- 1 campioni positivi a livello di contaminazione medio (range 7-10 larve)

2.1.1. Campioni negativi

Preparazione di una polpetta da 100 grammi (metodo Agitatore Magnetico) o 35 grammi (metodo Digestione automatica/Trichomatic) di macinato di lombo suino proveniente da un lotto testato e risultato negativo per *Trichinella*.

Per i laboratori che effettuano ricerca Trichinella anche su solipedi è stato utilizzato muscolo di cavallo proveniente da un lotto testato e risultato negativo per *Trichinella*.

I campioni negativi sono stati preparati in data 10/10/2017.

2.1.2. Campioni positivi:

Al centro della polpetta di macinato (suino o equino) è stato introdotto un film biodegradabile su cui è stata poggiata una soluzione titolata di larve ricavate dalla digestione di muscolo di topo infettato sperimentalmente dall'IZSLER con *Trichinella spiralis*, secondo il protocollo del Centro Nazionale di Referenza per le Trichinelle (EURLP c/o I.S.S. Roma).

Per i laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale uno dei campioni positivi è stato preparato utilizzando carne di cinghiale proveniente da un capo cacciato, testato e risultato negativo per *Trichinella*.

Prima dell'introduzione nella polpetta la soluzione è stata esaminata al microscopio ottico per determinare con precisione il numero di larve introdotte in ciascun campione. Il numero di larve introdotte in ciascun campione è stato registrato.

I campioni positivi sono stati preparati in data 11/10/2017.

2.2. Confezionamento e distribuzione

Ai laboratori partecipanti è stato assegnato dal sistema informatico un codice identificativo. Ogni campione è stato identificato tramite un'etichetta riportante il numero del campione assegnato casualmente dal sistema.

I campioni preparati sono stati confezionati in barattoli con chiusura di sicurezza (tappo pressione a sigillo). Ogni set di campioni veniva quindi rinchiuso in un sacchetto di plastica trasparente, prima di essere riposto nello scatola di cartone per la spedizione.

La distribuzione ai laboratori è avvenuta per il tramite delle Sezioni Diagnostiche Provinciali IZSLER ai quali i campioni sono stati distribuiti in date definite e ivi ritirati dai laboratori partecipanti.

Durante tutta la fase di distribuzione i campioni sono stati mantenuti a temperatura di refrigerazione.

2.3. Omogeneità e stabilità dei campioni

Per verificare l'omogeneità dei campioni il laboratorio organizzatore della prova valutativa ha esaminato mediante prova dell'agitatore magnetico 3 campioni positivi di suino, 3 campioni positivi di equino e 3 campioni positivi di cinghiale, preparati contemporaneamente a quelli utilizzati nella prova. Le prove si sono svolte nelle giornate del 12 e 13 ottobre 2017.

In tutti i campioni sono state rilevate larve di Trichinella.

Per valutare la stabilità dei campioni il laboratorio organizzatore della prova valutativa ha esaminato mediante prova dell'agitatore magnetico un set composto da 1 campione positivo di suino, 1 campione positivo di equino e 1 campione positivo di cinghiale, preparati contemporaneamente a quelli utilizzati nella prova, nelle giornate del 17,18, 20, 23 ottobre e 8 novembre 2017.

In tutti i campioni sono state rilevate larve di Trichinella.

3. Analisi e valutazione dei risultati

Ai fini della valutazione dei laboratori, sono stati presi in considerazione i risultati qualitativi relativi ai campioni inviati. I risultati delle prove condotte sui singoli campioni sono stati classificati come corretti quando conformi al risultato atteso. Sono state considerate due categorie di risultati: "Negativo" e "Positivo".

L'esito della conta delle larve è stato oggetto di analisi statistica al solo scopo di ottenere dati sull'efficienza del metodo di rilevazione applicato dai laboratori. A tale scopo è stata calcolata la mediana delle differenze assolute tra le larve inserite nei campioni e quelle rinvenute nei campioni positivi come suggerito dall'EURLP. Le differenze sono state riportate in grafico e analizzate tramite test di Kruskal-Wallis.

E' possibile che un laboratorio riporti più larve di quelle realmente inserite nei campioni, in tal caso viene tollerata una sovrastima non superiore a due larve.

4. Riservatezza

Per garantire la riservatezza dei dati, i laboratori sono stati identificati mediante un codice, che è stato utilizzato per tutte le comunicazioni riguardanti il laboratorio stesso.

I dati, trattati in forma confidenziale e riservata, vengono utilizzati dal laboratorio organizzatore esclusivamente per l'analisi e la valutazione dei risultati. La correlazione Codice-Laboratorio è nota solo al laboratorio, all'Ente promotore e all'Ente organizzatore della prova valutativa.

5. Presentazione dei risultati

Sono prevenuti risultati da tutti e 17 i laboratori che avevano aderito al circuito.

In Tabella A viene riportata la decodifica dei campioni oggetto della prova valutativa.

I risultati relativi ai campioni oggetto della prova sono riportati in Tabella B (metodo dell'agitatore magnetico).

In tabella C sono riportati per i campioni positivi oggetto della prova valutativa i dati relativi alle larve rinvenute dai laboratori. I casi di sovrastima sono stati evidenziati.

In tabella D sono state riportate per laboratorio e per metodo i dati riepilogativi sulla differenza tra le larve presenti e le larve rinvenute dai laboratori.

In Figura 1 infine sono state riportate le differenze tra il numero di larve attese e rilevate dai diversi laboratori partecipanti sui campioni positivi, rapportate alla media della prova.

6. Conclusioni

Tutti i campioni distribuiti sono stati esaminati e classificati correttamente dai laboratori partecipanti, ad eccezione di un campione positivo a basso titolo non rilevato dal laboratorio 138. A tale laboratorio è già stato inviato un altro campione positivo a basso titolo. Il campione è stato esaminato ed individuato contaminato.

Rispetto alle differenze tra il numero delle larve presenti e quello rinvenuto dai laboratori, non sono state evidenziate differenze significative tra i laboratori (Kruskal-Wallis, $p=0.23$).

Complessivamente la prova interlaboratorio ha mostrato un risultato molto soddisfacente.

Tabella A – Decodifica dei campioni esaminati

Codice Laboratorio	Metodo	Risultato atteso		
		campione 1 positivo	campione 2 positivo	campione 3 negativo
117	Agitatore magnetico	938*	177	363
124	Agitatore magnetico	640*	619	442
129	Agitatore magnetico	934**	108**	957**
134	Agitatore magnetico	416*	327	929
136	Agitatore magnetico	105*	220	225
137	Agitatore magnetico	159*	769	328
138	Agitatore magnetico	534	138	560
139	Agitatore magnetico	807*	255	728
142	Agitatore magnetico	578*	771	908
144	Agitatore magnetico	783	768	916
148	Agitatore magnetico	858*	224	680
153	Agitatore magnetico	613	284	261
157	Agitatore magnetico	671*	149	460
215	Agitatore magnetico	479	634	266
219	Agitatore magnetico	839	506	183
222	Agitatore magnetico	293	207	484
223	Agitatore magnetico	001	002	003

*campione di muscolo di cinghiale

**campione di carne equina

Tabella B – Agitatore magnetico. Risultati dei Laboratori partecipanti.

Codice Laboratorio	Risultato atteso		
	campione 1 positivo	campione 2 positivo	campione 3 negativo
117	Positivo	Positivo	Negativo
124	Positivo	Positivo	Negativo
129	Positivo	Positivo	Negativo
134	Positivo	Positivo	Negativo
136	Positivo	Positivo	Negativo
137	Positivo	Positivo	Negativo
138	Positivo	Negativo	Negativo
139	Positivo	Positivo	Negativo
142	Positivo	Positivo	Negativo
144	Positivo	Positivo	Negativo
148	Positivo	Positivo	Negativo
153	Positivo	Positivo	Negativo
157	Positivo	Positivo	Negativo
215	Positivo	Positivo	Negativo
219	Positivo	Positivo	Negativo
222	Positivo	Positivo	Negativo
223	Positivo	Positivo	Negativo

I risultati non conformi all'atteso sono stati evidenziati.

Tabella C – Agitatore Magnetico. Valori di recupero sui campioni positivi ottenuti dai Laboratori partecipanti

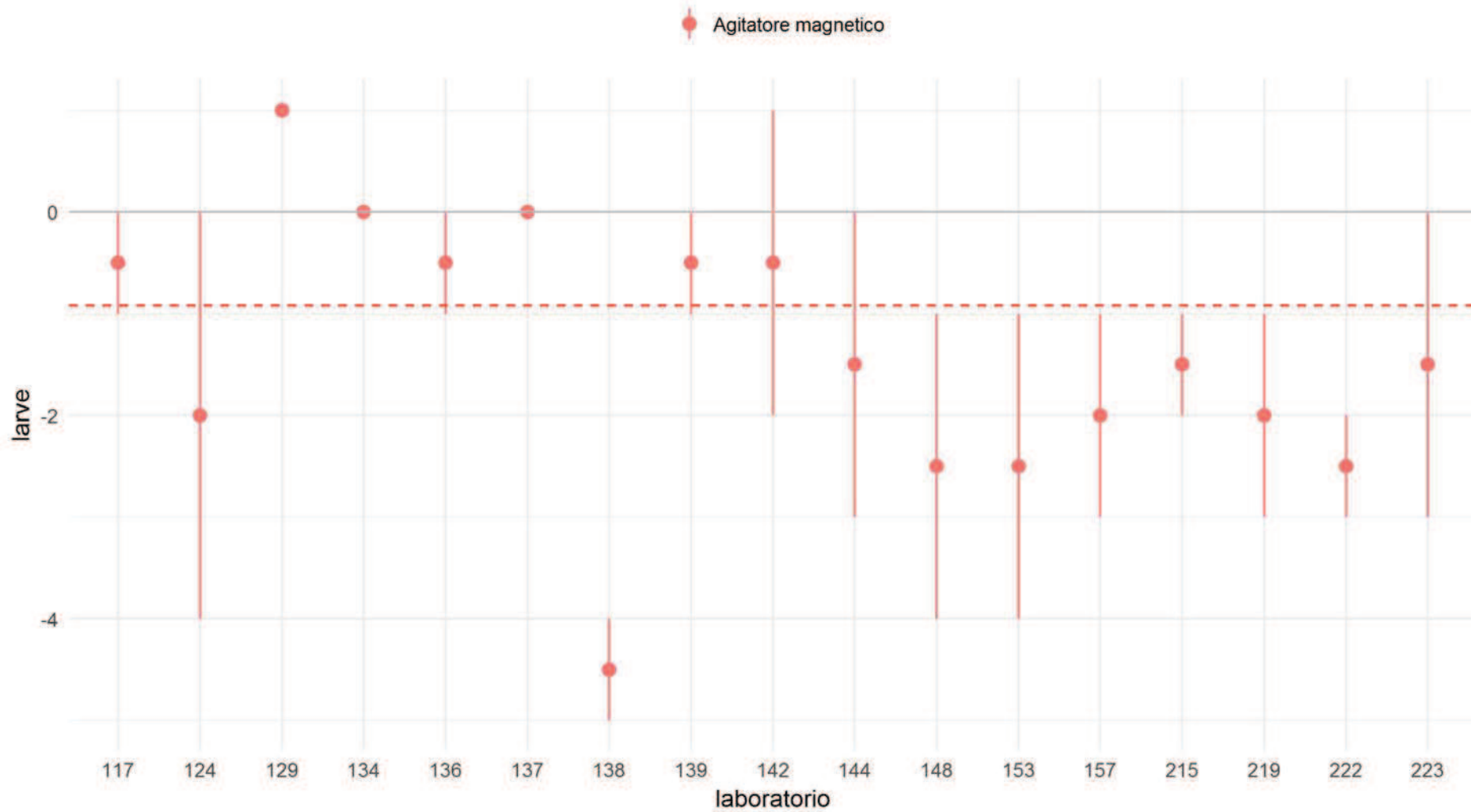
Codice Laboratorio	ID campione	Larve presenti	Larve rinvenute
117	177	3	3
117	938	8	7
124	619	5	5
124	640	7	3
129	108	5	6
129	934	7	8
134	327	6	6
134	416	8	8
136	105	9	9
136	220	6	5
137	159	10	10
137	769	3	3
138	138	5	0
138	534	10	6
139	255	4	4
139	807	7	6
142	578	10	11
142	771	5	3
144	768	5	5
144	783	9	6
148	224	4	3
148	858	10	6
153	284	5	4
153	613	7	3
157	149	6	5
157	671	10	7
215	479	10	9
215	634	6	4
219	506	5	2
219	839	10	9
222	207	5	3
222	293	9	6
223	001	10	7
223	002	3	3

I casi di sovrastima sono stati evidenziati

Tabella D – Risultati comparativi sulla ricerca delle larve ottenuti dai Laboratori partecipanti sui campioni positivi – Metodo dell’Agitatore Magnetico

Codice Laboratorio	N campioni analizzati	Media della differenza assoluta (numero di larve)
117	2	-0.5
124	2	-2.0
129	2	1.0
134	2	0.0
136	2	-0.5
137	2	0.0
138	2	-4.5
139	2	-0.5
142	2	-0.5
144	2	-1.5
148	2	-2.5
153	2	-2.5
157	2	-2.0
215	2	-1.5
219	2	-2.0
222	2	-2.5
223	2	-1.5

Fig. 1 – Differenze (min, media, max) tra larve rinvenute e larve presenti nei campioni positivi analizzati dai laboratori partecipanti



LEGENDA. Il valore zero dell'ordinata rappresenta il risultato ottimale (linea grigia). La linea rossa tratteggiata rappresenta la media della differenza tra larve rilevate e presenti ottenuta nella prova (-0.92) e rappresenta l'andamento medio dei laboratori partecipanti.