



IZSAM G.CAPORALE  
TERAMO


# Ring test *Campylobacter*: risultati e futuro protocollo di infezione e valutazione



Zilli Katiuscia



# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013



**Scopo del circuito:** monitorare nel tempo i livelli di competenza tecnica dei laboratori che effettuano le prove microbiologiche per ricerca e/o numerazione di *Campylobacter* da alimenti.

## Metodi di prova da utilizzare

ISO 10272-1:2006 : Microbiologia di alimenti e mangimi per animali - Metodo orizzontale per la ricerca e la conta di *Campylobacter spp.*

Parte 1: Metodo per la ricerca

Parte 2: Numerazione

Altro metodo in uso presso il laboratorio, validato

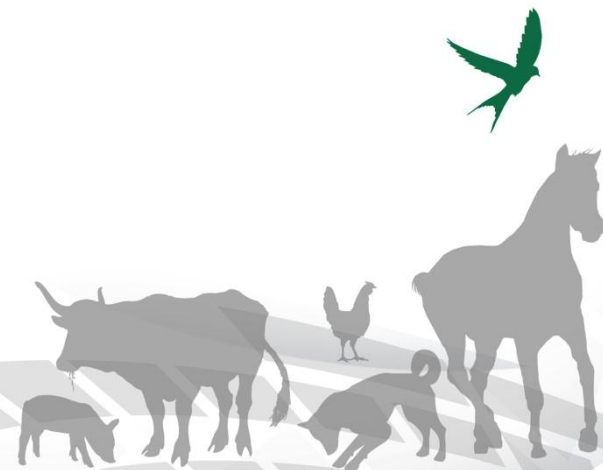


# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

Set da analizzare costituito da 12 campioni

9 campioni di carne di pollo  
contaminati con  
*Campylobacter jejuni*

3 campioni di carne di pollo  
contaminati con  
*E. coli* e *S. aureus*

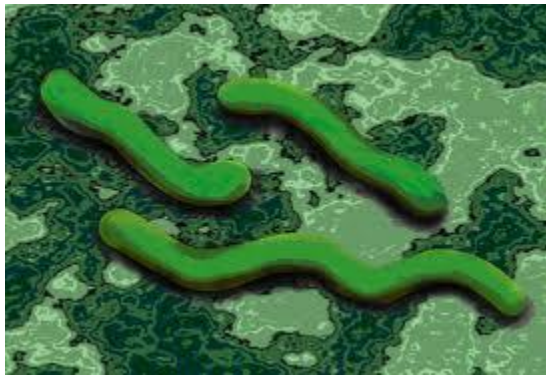


# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

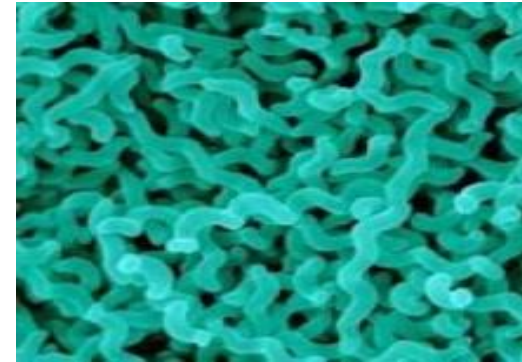
Per la contaminazione dei campioni sono state utilizzate aliquote di sospensioni batteriche disidratate e standardizzate realizzate presso i nostri laboratori

2 livelli di carica

Bassa



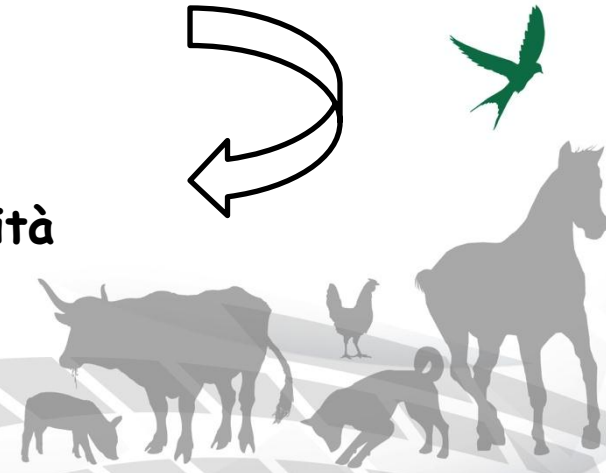
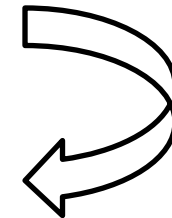
Alta



Omogeneità

e

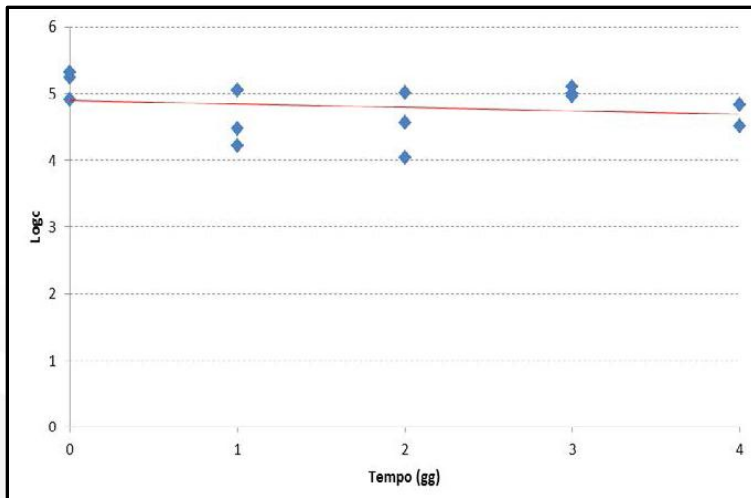
Stabilità



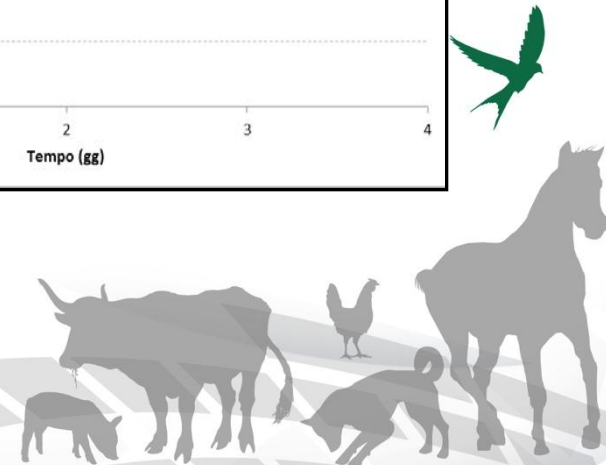
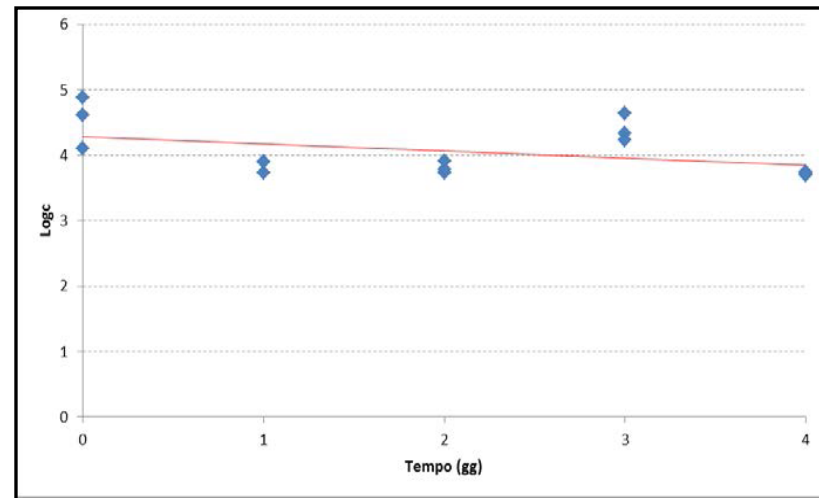
# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

Valutazione della stabilità: Analisi di tre campioni ai tempi T0, T1, T2, T3, T4 per un totale di 15 campioni

## Carica alta



## Carica bassa





# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

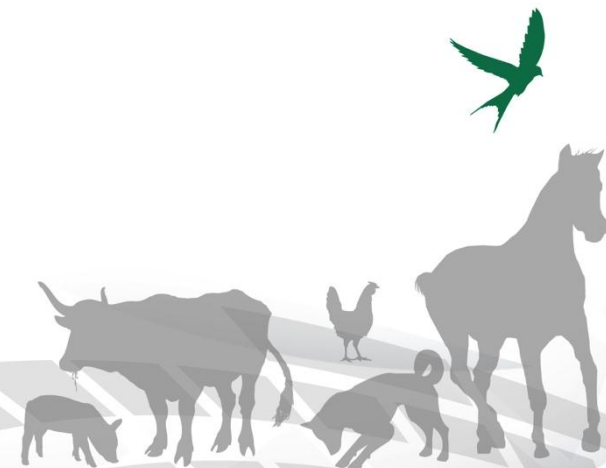


Valutazione dell'omogeneità attraverso il test T2 di Cochran

Il numero di campioni da analizzare è stato calcolato sulla base della formula definita dall'ILAC\*

$$3 \times \sqrt[3]{n}$$

n = numerosità del lotto considerato



# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

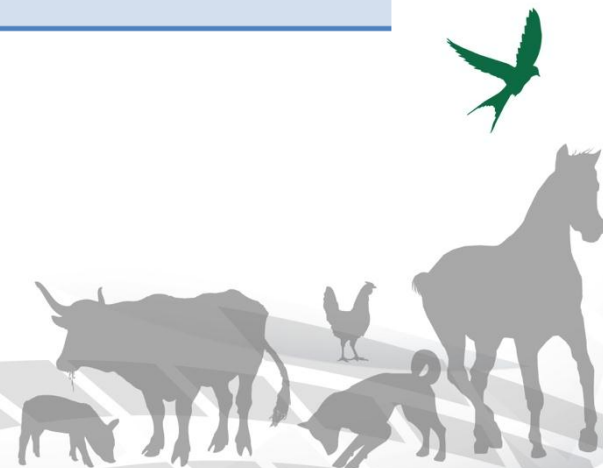


## Omogeneità carica alta

<b>media</b>	<b>5,263353</b>
<b>dev.st</b>	0,07
<b>min</b>	5,21388
<b>max</b>	5,338819
<b>CV</b>	1%
<b>T2</b>	0,00
<b>variation between samples</b>	0,00

## Omogeneità carica bassa

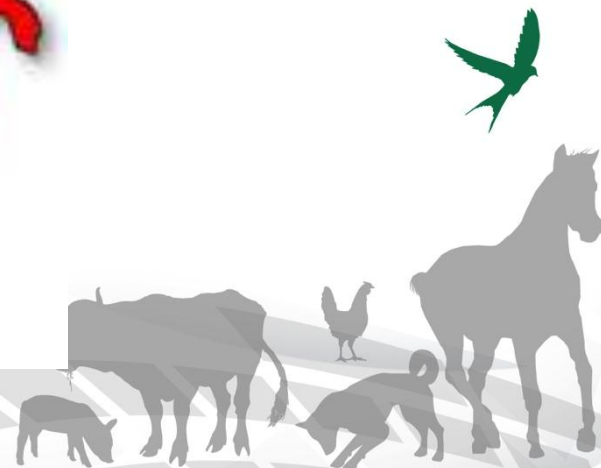
<b>media</b>	<b>4,761332</b>
<b>dev.st</b>	0,31
<b>min</b>	4
<b>max</b>	5,104735
<b>CV</b>	6%
<b>T2</b>	0,20
<b>variation between samples</b>	0,02





# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

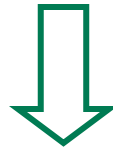
16 laboratori partecipanti contrassegnati da codici  
numeri





# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

Valutazione statistica dei risultati ottenuti per la ricerca di  
*Campylobacter spp*



Distribuzione  $\beta$  ( $s+1;n-s+1$ ) con intervallo di confidenza al 95%



$s$ =numero dei risultati  
corretti forniti da  
ciascun  
laboratorio

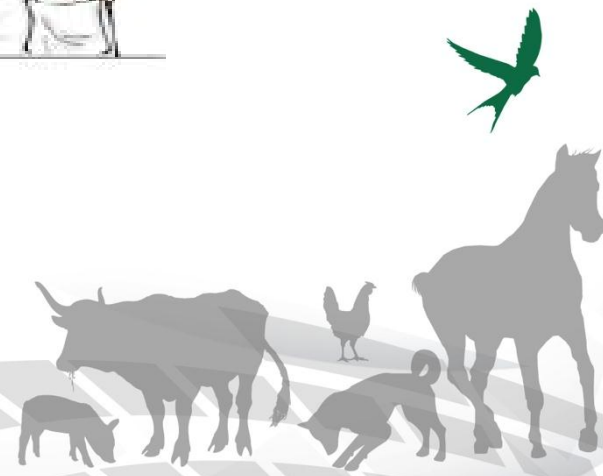
$n$ =numero dei risultati  
totali forniti da  
ciascun  
laboratorio




# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

Risultati ottenuti dai laboratori

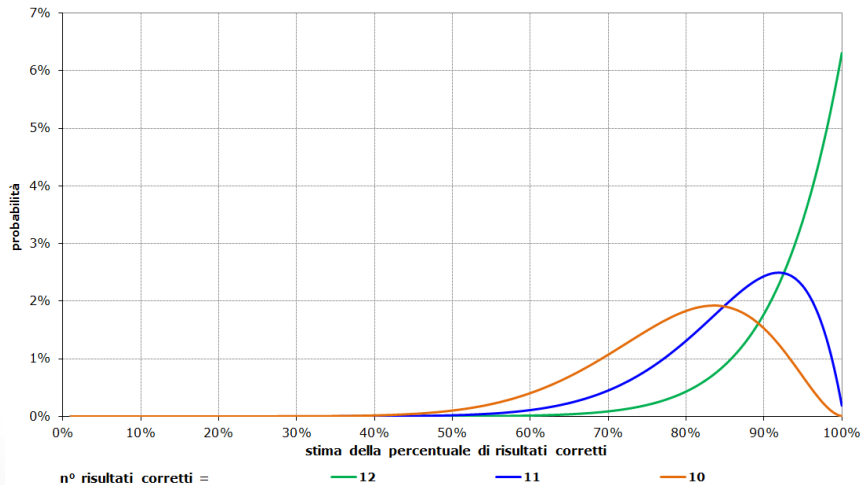
Identificativo campione	Corretti	Esaminati	I.C. 95% Distribuzione Beta
658	12	12	79,42% - 100%
659	12	12	79,42% - 100%
660	12	12	79,42% - 100%
661	12	12	79,42% - 100%
663	12	12	79,42% - 100%
711	12	12	79,42% - 100%
712	11	12	63,97% - 98,08%
713	12	12	79,42% - 100%
716	10	12	54,55% - 98,08%
732	12	12	79,42% - 100%
734	12	12	79,42% - 100%
735	11	12	63,97% - 98,08%
737	12	12	79,42% - 100%
738	11	12	63,97% - 98,08%
740	10	12	54,55% - 98,08%
766	12	12	79,42% - 100%



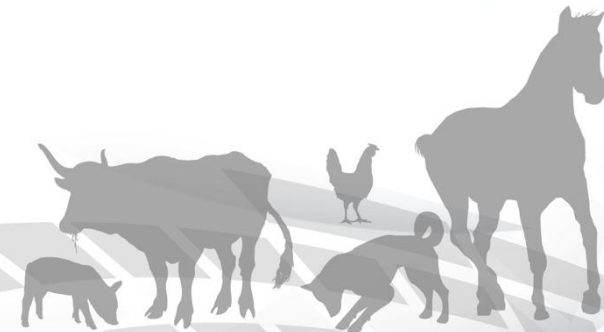
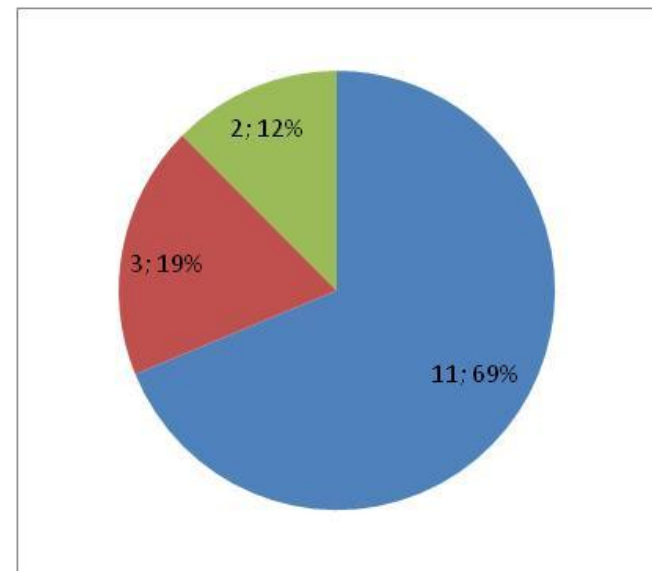
# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013



Stima della probabilità di  
ottenere risultati  
corretti



Risultati ottenuti dai  
laboratori



# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

Valutazione statistica dei risultati ottenuti per la numerazione di  
*Campylobacter spp*



Calcolo del valore di z-score previa  
trasformazione logaritmica dei dati



$$\text{Z-score} = \frac{X_i - X_a}{\text{NIQ}}$$



$X_i$  = risultato fornito dal laboratorio i-esimo  
 $X_a$  = valore assegnato  
NIQ = intervallo interquartile normalizzato



# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

Criteri per la valutazione dei laboratori

$|z| \leq 2$   
soddisfacente

$2 < |z| < 3$   
discutibile

$|z| \geq 3$   
insoddisfacente


Per valutare la prestazione globale del laboratorio è stato calcolato un indice definito dalla somma dei quadrati dei valori di z-score del singolo laboratorio

$$SQZ_{lab} = \sum_{i=1}^n z_i^2$$





# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013



E' stato calcolato, per ogni laboratorio, l'indice SRZ basato sulla somma degli z-score per verificare la presenza di errori sistematici

$$SRZ_{lab} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i}{\sqrt{n}}$$

n = numero di campioni analizzati per ciascun laboratorio

z<sub>i</sub> = valore di z-score relativo al campione i-esimo

$|z| \leq 2$   
soddisfacente

$2 < |z| < 3$   
discutibile

$|z| \geq 3$   
insoddisfacente

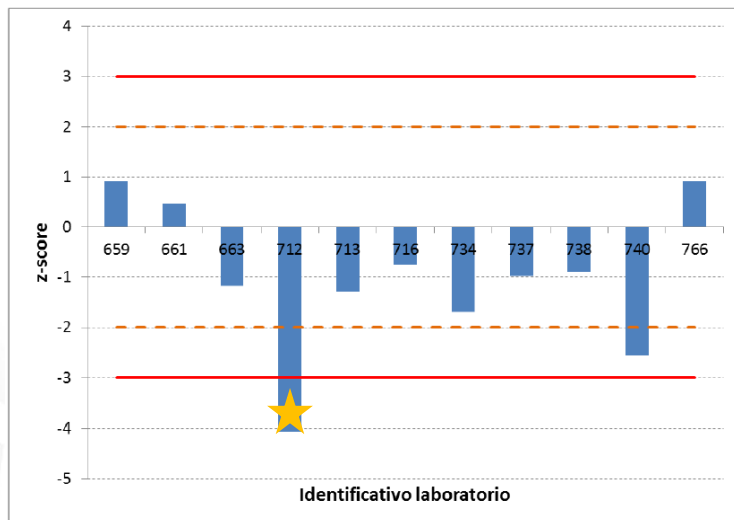


# Circuito inter-laboratorio Campylobacter alimenti 2013

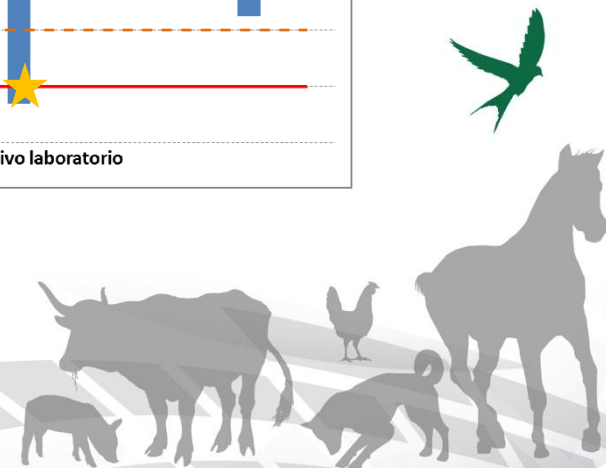
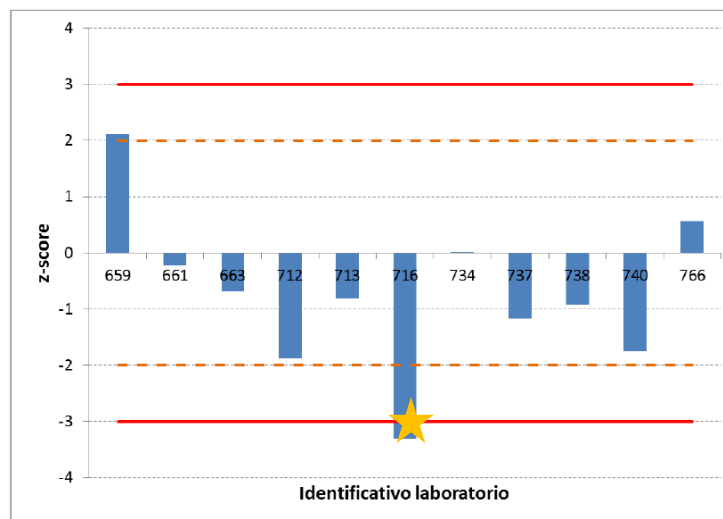
Valutazione dello z-score dei singoli campioni

Valore atteso = 4,79 log UFC

Campione 1



Campione 3

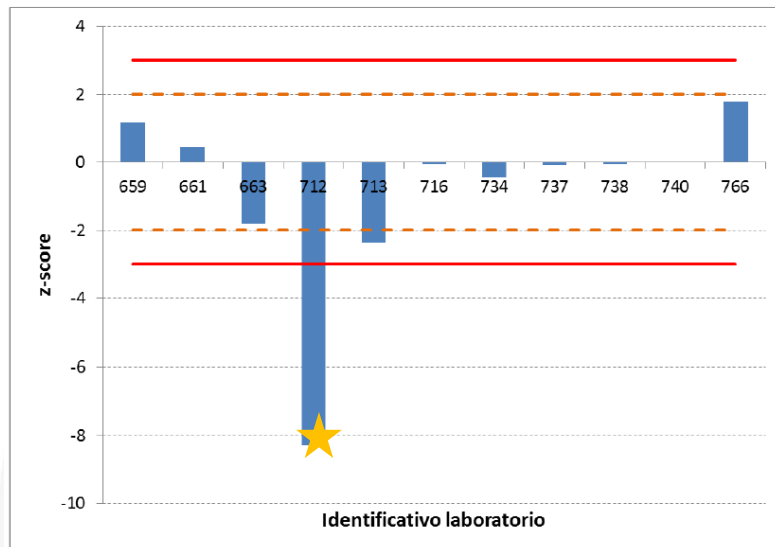


# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

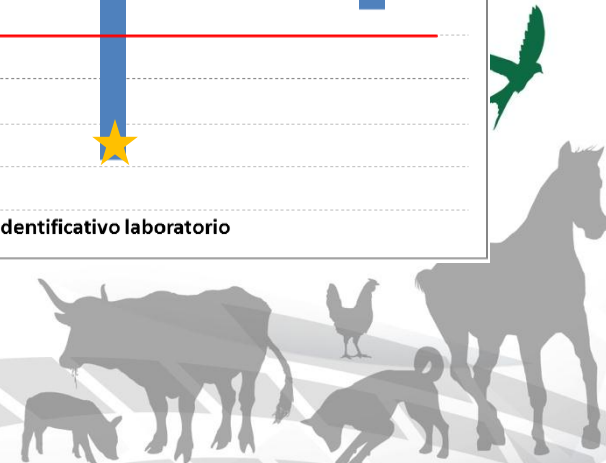
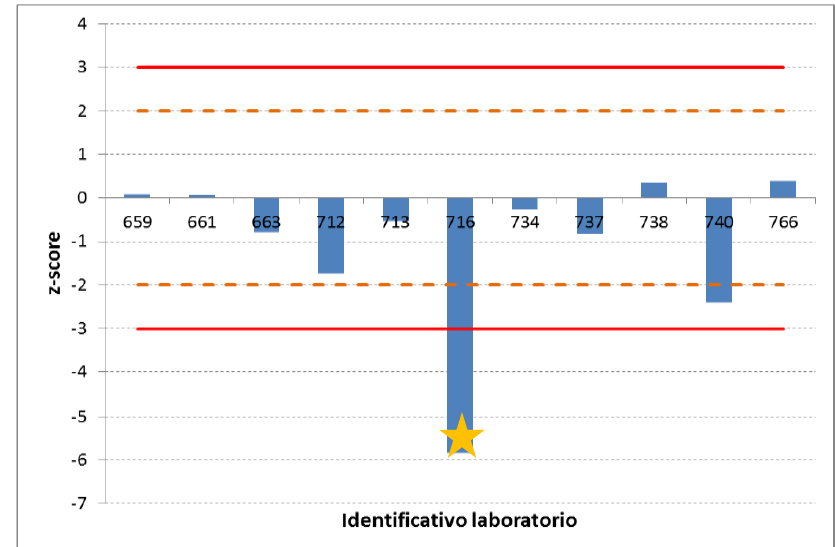
Valutazione dello z-score dei singoli campioni

Valore atteso = 4,79 log UFC

Campione 4



Campione 6

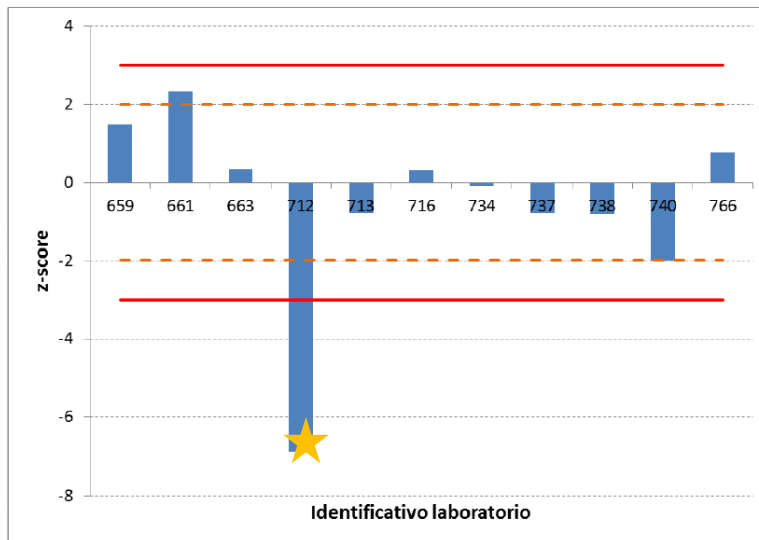


# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

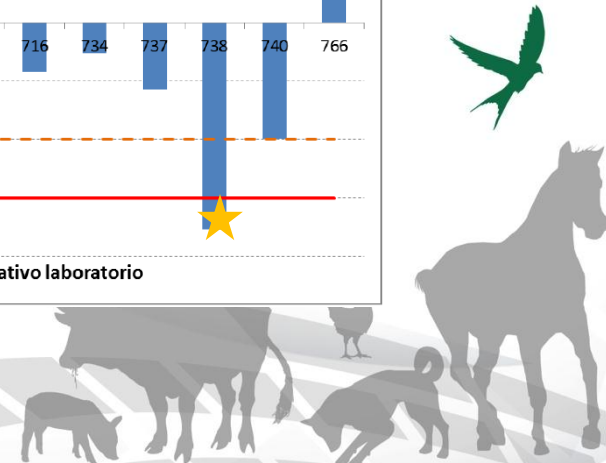
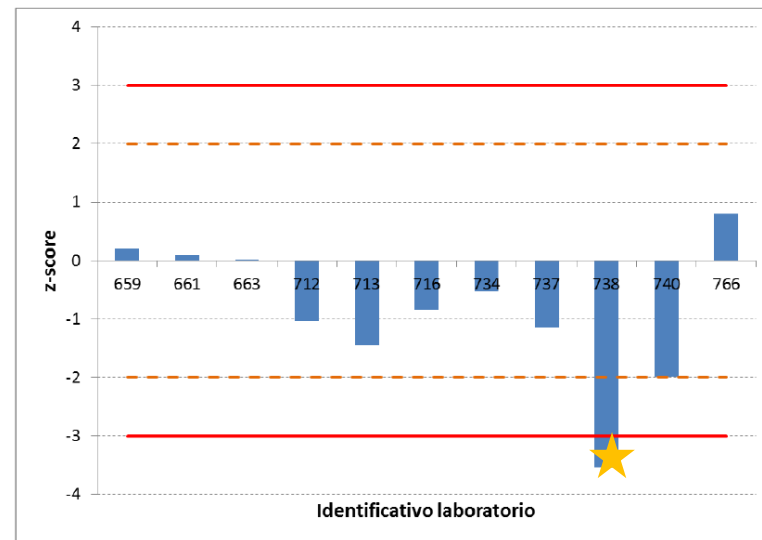
Valutazione dello z-score dei singoli campioni

Valore atteso = 4,05 log UFC

Campione 7



Campione 9

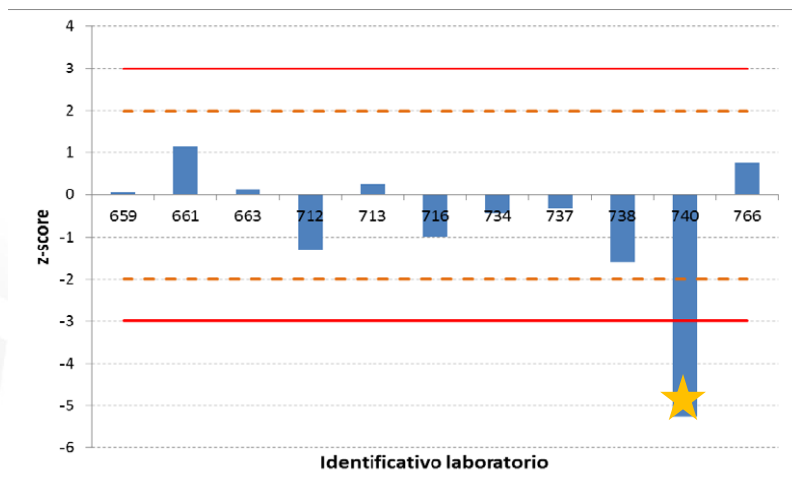


# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

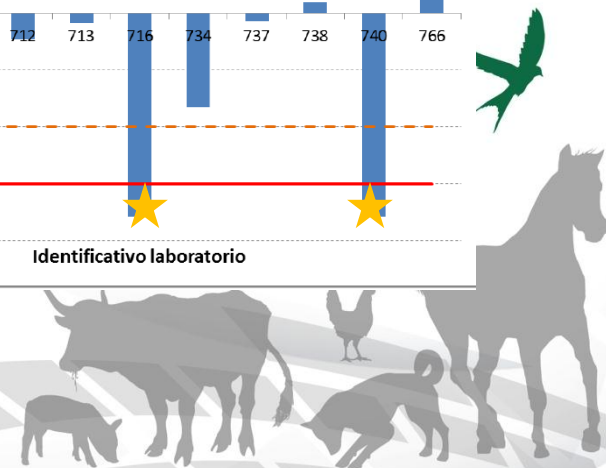
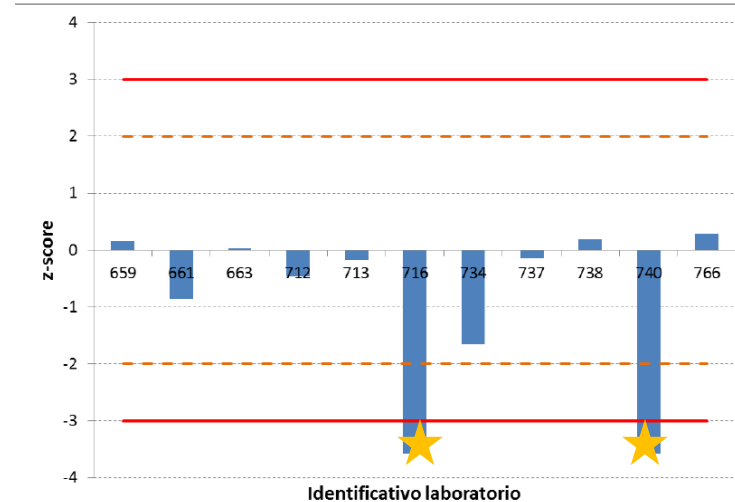
Valutazione dello z-score dei singoli campioni

Valore atteso = 4,05 log UFC

Campione 10



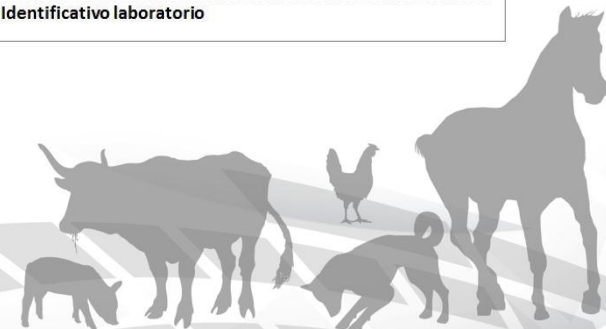
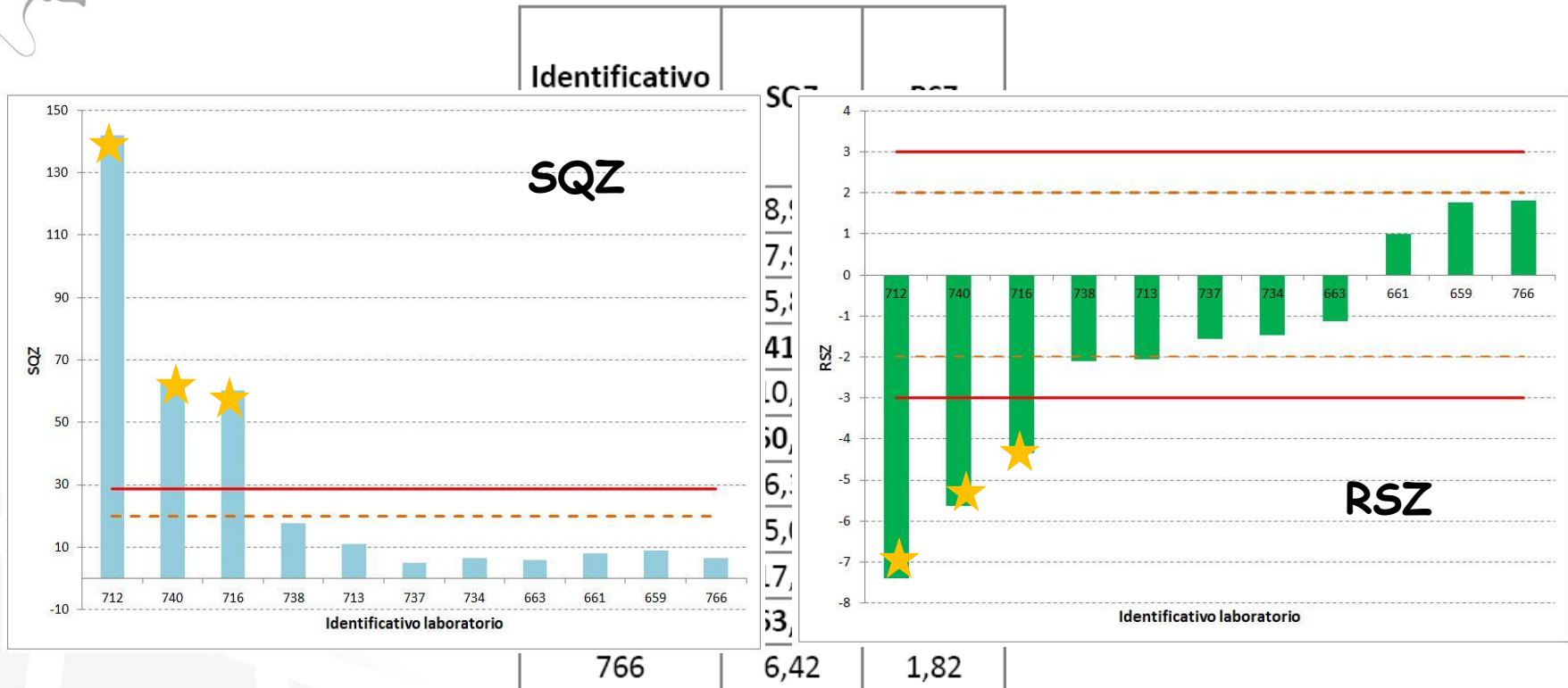
Campione 12





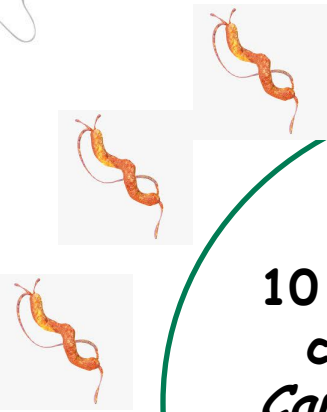
# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* alimenti 2013

Valutazione delle prestazioni dei laboratori



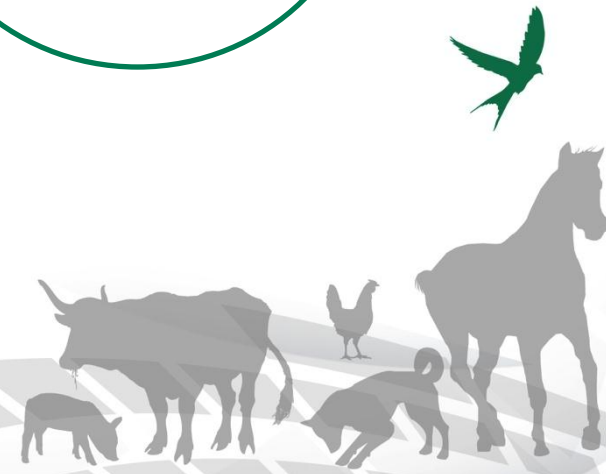
# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* diagnostica 2013

Set da analizzare costituito da 15 campioni di feci



10 campioni positivi  
contaminati con  
*Campylobacter coli*,  
*Campylobacter jejuni*,  
*Campylobacter fetus*

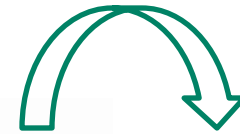
5 campioni  
negativi per  
*Campylobacter spp*



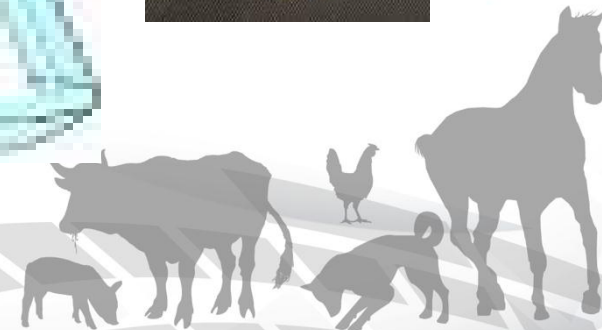
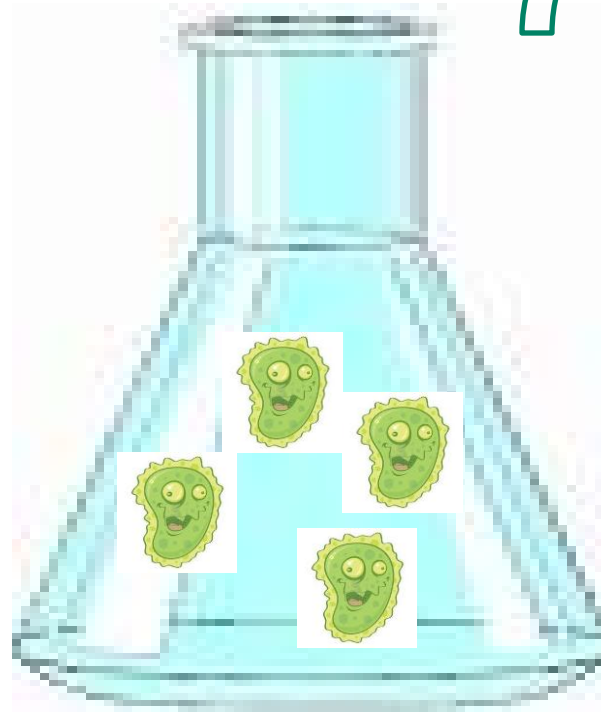
# Circuito inter-laboratorio Campylobacter diagnostica 2013

Modalità di contaminazione dei campioni

$10^8$   $10^9$  UFC/ml



1 ml



*Campylobacter jejuni*

*Campylobacter coli*

*Campylobacter fetus*



# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* diagnostica 2013



Valutazione della stabilità  
e omogeneità:

Analisi di tre campioni ai tempi T0, T1, T2, T3, T4, T5 per un totale di 18 campioni per ciascuna delle 3 specie di *Campylobacter*.

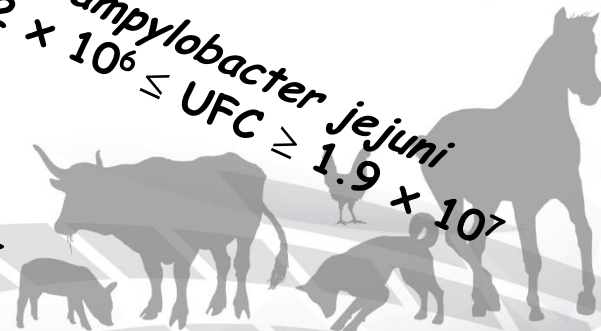
Tempo	Risultato 1	Risultato 2	Risultato 3
0	POS	POS	POS
1	POS	POS	POS
2	POS	POS	POS
3	POS	POS	POS
4	POS	POS	POS
5	POS	POS	POS

In tutti gli istanti, per tutte le ripetizioni è stata rilevata la presenza di

*Campylobacter fetus*  
 $2.1 \times 10^5 \leq \text{UFC} \leq 3.2 \times 10^7$

*Campylobacter coli*  
 $1.9 \times 10^6 \leq \text{UFC} \leq 1.8 \times 10^7$

*Campylobacter jejuni*  
 $3.2 \times 10^6 \leq \text{UFC} \leq 1.9 \times 10^7$



# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* diagnostica 2013



21 laboratori partecipanti contrassegnati da codici  
numeri

I risultati ottenuti sono stati interpretati come errati o corretti  
sulla base della corrispondenza ai risultati attesi

Distribuzione  $\beta (s+1; n-s+1)$  con intervallo di confidenza al 95%

$s$  = numero dei risultati  
corretti forniti da  
ciascun  
laboratorio

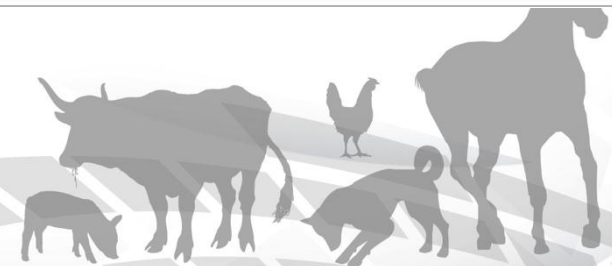
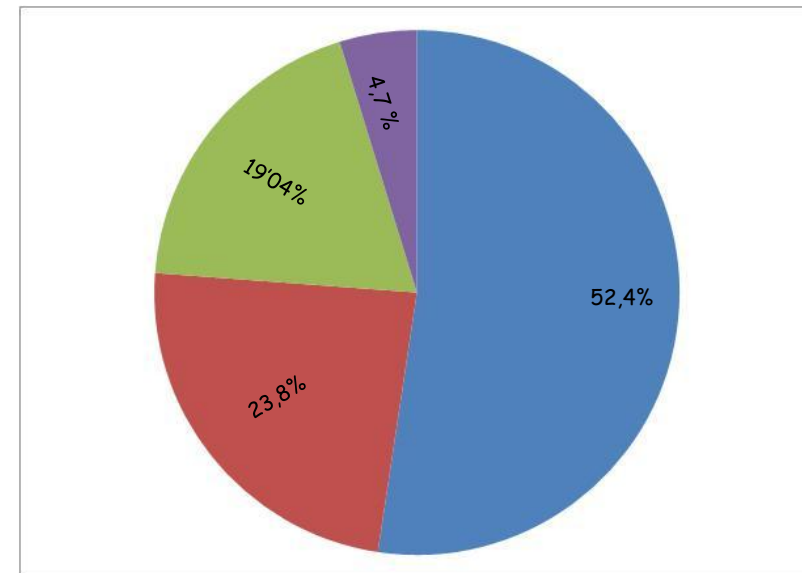
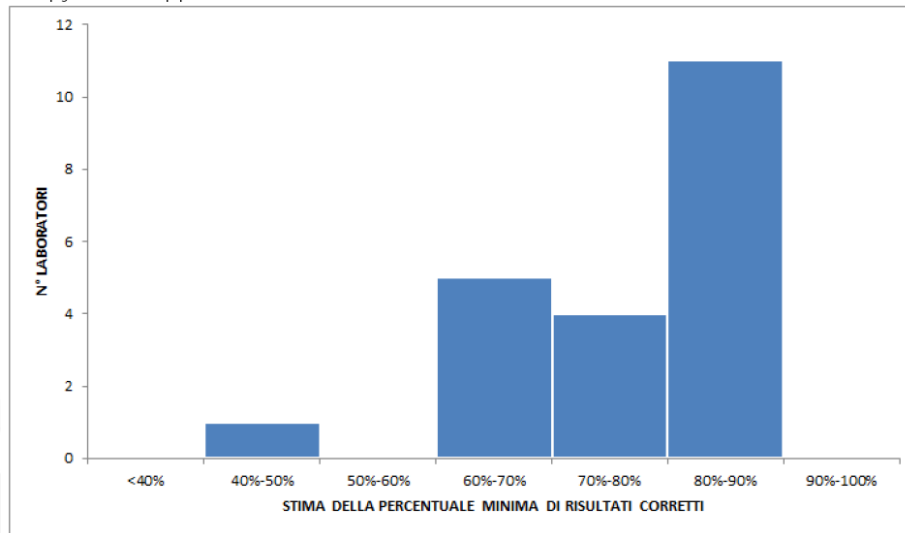
$n$  = numero dei risultati  
totali forniti da  
ciascun  
laboratorio





# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* diagnostica 2013

Risultati ottenuti dai laboratori per la ricerca di  
*Campylobacter* nelle feci e stima della percentuale minima di  
risultati corretti



# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* diagnostica 2013



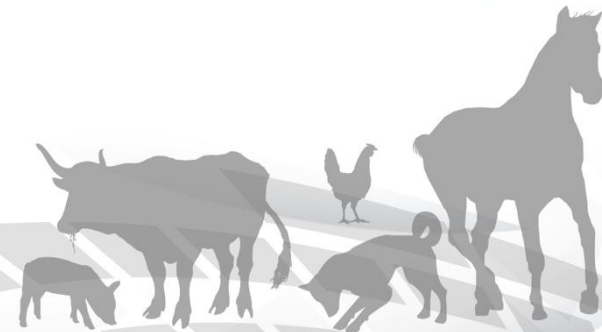
Risultati ottenuti dai laboratori per l'identificazione di  
specie (opzionale)



Prova effettuata da 18 dei 21 laboratori partecipanti



9 laboratori hanno identificato correttamente tutte le  
specie

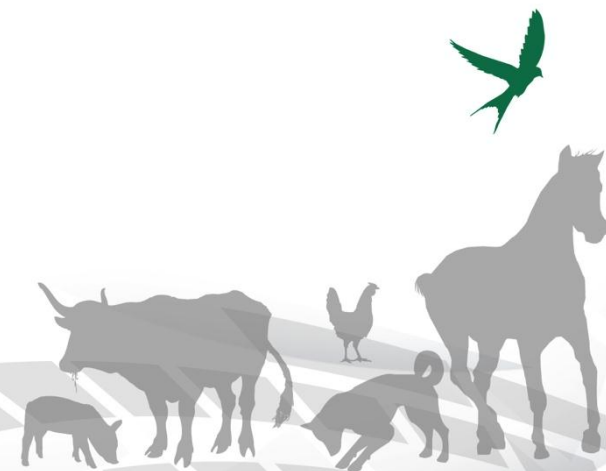


# Circuito inter-laboratorio *Campylobacter* diagnostica 2013

Identificazione di specie dei 10 campioni positivi

IDENTIFICATIVO LABORATORIO	CAMPYLOBACTER COLI	CAMPYLOBACTER FETUS	CAMPYLOBACTER JEJUNI	ALTRO	TOTALE POSITIVI
626	4	2	4	0	10
627	4	2	4	0	10
628	4	2	4	0	10
629	4	2	4	0	10
630	1	0	7	2	10
631	3	2	4	1	10
633	4	2	4	0	10
637	4	2	4	0	10
638	4	0	4	0	8
639	4	1	4	0	9
640	3	0	5	0	8
641	5	0	4	0	9
642	4	2	4	0	10
643	4	2	3	0	9
648	4	2	4	0	10
651	4	2	4	0	10
652	2	2	5	1	10
739	2	1	4	3	10

Le maggiori difficoltà si evidenziano per l'identificazione di *Campylobacter fetus*



**GRAZIE  
PER  
L'ATTENZIONE**

