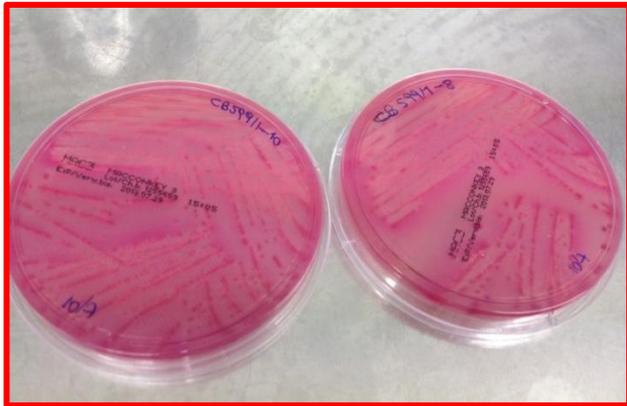


PT41

sull'identificazione e la tipizzazione di ceppi di *Escherichia coli* produttori di Shiga tossina (STEC) ed altri *E. coli* diarreagenici – 2024



Valeria Michelacci



Obiettivi dello studio

- Identificazione della presenza dei **geni di virulenza** che caratterizzano i ceppi di *E. coli* patogeni (*stx* ed *eae* per STEC/EPEC, *ipaH* per EIEC, *sth* e *stp* e *lt* per ETEC, *aggR* e *aaiC* per EAEC).
- Identificazione dei **14 sierogruppi STEC** indicati nell'EURL-VTEC_Method_003.
- **Sottotipizzazione** dei geni codificanti per le **Shiga Tossine** (Stx).
- Caratterizzazione di un set di sequenze genomiche e l'identificazione di cluster sulla base dell'analisi genomica (esercizio volontario).



Disegno dello studio/1

1. L'identificazione dei principali geni di virulenza dei ceppi STEC:

stx1*, *stx2* e *eae (codificante l'intimina)

2. L'identificazione di geni di virulenza associati ad altri patotipi di *E. coli* diarreagenici (DEC):

ipaH (EIEC)

sth*, *stp* e *lt (ETEC)

aggR* e *aaiC (EAEC)



Disegno dello studio/2

3. Identificazione dei seguenti **14 sierogruppi**:

O26, O103, O111, O145, O157 (“top 5”)

O45 e **O121** (epidemiologicamente rilevanti negli USA)

O104 (importante dopo l'epidemia tedesca del 2011)

O55, O80, O91, O113, O128, O146 selezionati sulla base alla loro prevalenza nelle infezioni umane in Europa negli ultimi anni, secondo i dati raccolti da ECDC

4. Sottotipizzazione dei geni *stx*:

stx1a*, *stx1c* e *stx1d

da ***stx2a* a *stx2g***

5. Analisi genomica (su base volontaria)

- Caratterizzazione in termini di geni associati al sierotipo e geni di virulenza
- Identificazione di correlazioni tra ceppi mediante analisi **cgMLST** o **SNP**



Caratteristiche dei ceppi di *E. coli* utilizzati nello studio

	ID PT41	Sierotipo	MLST	Profilo dei geni di virulenza DEC	Sottotipo stx1	Sottotipo stx2	Cluster
TOP 14	Strain 1	O146:H21	ST442	<i>stx1</i>	<i>stx1c</i>	-	No
TOP 14	Strain 2	O55:H9	ST301	<i>eae stx2</i>	-	<i>stx2f</i>	No
TOP 5	Strain 3	O145:H28	ST137	<i>eae stx1</i>	<i>stx1a</i>	-	No
TOP 5	Strain 4	O26:H11	ST29	<i>eae stx2</i>	-	<i>stx2a</i>	Sì
	Strain 5	O86:H2	ST10	<i>aggR aaiC</i>	-	-	No
	Strain 6	O124:H30	ST6	<i>ipaH</i>	-	-	No



Virulotipo completo basato su WGS

ID PT41	Virulotipo
Ceppo 1	<i>celb, cia, ehxa, espi, gad, iha, irea, iss, iucc, iuta, kpse, lpfa, mchb, mchc, mchf, ompt, senb, suba, terc, tia, trat</i>
Ceppo 2	<i>cba, cia, cma, cvac, eae, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espp, gad, hlyf, hra, iha, iron, iss, mchb, mchc, mchf, nlea, nleb, nlec, ompt, sita, terc, tir, trat</i>
Ceppo 3	<i>asta, cba, celb, chua, cif, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espj, gad, iha, iucc, iuta, neuc, nlea, nleb, nlec, tccp, terc, tir, trat</i>
Ceppo 4	<i>asta, cba, cif, cma, eae, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espj, etpd, fyua, gad, iha, iss, iucc, iuta, lpfa, nlea, nleb, ompt, tccp, terc, tir, trat</i>
Ceppo 5	<i>aaic, aap, aar, aata, afad, agg3b, agg3c, agg3d, agg5a, aggr, espi, gad, iha, iucc, iuta, kpse, kpsmii, orf3, orf4, pic, terc</i>
Ceppo 6	<i>capu, fyua, gad, iha, ipad, ipah9, iucc, iuta, pic, senb, siga, sita, terc, trat, virf</i>



Caratteristiche dei genomi di *E. coli* distribuiti (esercizio volontario)

ID PT41	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Sierotipo	MLST	Profilo dei geni di virulenza DEC	Sottotipo stx1	Sottotipo stx2	Cluster
SEQ_A	Sì	O80:H2	ST301	<i>eae stx2</i>	-	<i>stx2d</i>	No
SEQ_B	Sì	O171:H2	ST332	<i>stx2</i>	-	<i>stx2b stx2c</i>	No
SEQ_C	Sì	O26:H11	ST29	<i>eae stx2</i>	-	<i>stx2a</i>	Sì
SEQ_D	Sì	O26:H11	ST29	<i>eae stx2</i>	-	<i>stx2a</i>	Sì
SEQ_E	Sì	O26:H11	ST29	<i>eae stx2</i>	-	<i>stx2a</i>	Sì
SEQ_F	Sì	O26:H11	ST29	<i>eae stx2</i>	-	<i>stx2a</i>	No
SEQ_G ¹	No	O26:H11	ST21	<i>eae stx2</i>	-	<i>stx2a</i>	No
SEQ_H ²	No	O98:H21	ST306	<i>eae stx1</i>	<i>stx1a</i>	-	No

Single end

¹ La sequenza non era accettabile per l'analisi perché la profondità di copertura era 14x.

² La sequenza non era accettabile per l'analisi perché la sequenza genomica del ceppo di *E. coli* era contaminata da sequenze di *Enterobacter asburiae*.



Virulotipo completo basato su WGS

ID PT41	Virulotipo
SEQ_A	<i>afaa, afab, afac, afad, afae8, cea, cia, cvac, eae, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espp, etsc, gad, hlyf, hra, iron, iss, iucc, iuta, mchb, mchc, mchf, nlea, nleb, nlec, ompt, sita, terc, tir, trat</i>
SEQ_B	<i>asta, cia, espi, espp, gad, hra, iha, iss, lpfa, neuc, ompt, terc, trat</i>
SEQ_C	<i>asta, cba, cif, cma, eae, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espj, etpd, fyua, gad, iha, iss, iucc, iuta, lpfa, nlea, nleb, ompt, tccp, terc, tir, trat</i>
SEQ_D	<i>asta, cba, cif, cma, eae, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espj, etpd, fyua, gad, iha, iss, iucc, iuta, lpfa, nlea, nleb, ompt, tccp, terc, tir, trat</i>
SEQ_E	<i>asta, cba, cif, cma, eae, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espj, etpd, fyua, gad, iha, iss, iucc, iuta, lpfa, nlea, nleb, ompt, tccp, terc, tir, trat</i>
SEQ_F	<i>cba, cif, cma, eae, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espj, etpd, fyua, gad, iha, iss, iucc, iuta, lpfa, nlea, nleb, ompT, tccp, terc, tir, trat</i>
SEQ_G	<i>asta, cif, efa1, ehxa, espa, espb, espf, espj, espp, fyua, gad, iha, iss, iucc, katp, lpfa, nlea, nleb, nlec, terc, tir, toxb, trat</i>
SEQ_H	<i>asta, ehxa, espa, espf, espi, espp, fyua, gad, iha, iss, iucc, iuta, lpfa, nlea, nleb, nlec, ompt, tccp, terc, tir, trat</i>



Partecipanti

9 laboratori

8 IZZSS

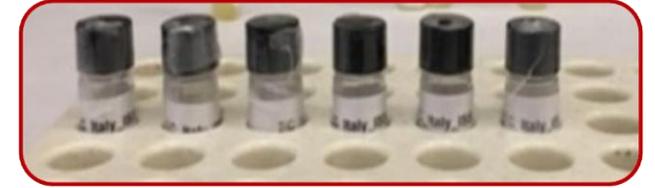
1 Azienda per la tutela della salute (ATS)

- ATS Milano Città Metropolitana - Laboratorio di Prevenzione, Milano
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana - UOT Toscana Nord –Pisa
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale"
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Sede Territoriale di Bologna
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Torino
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Putignano (BA)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD)

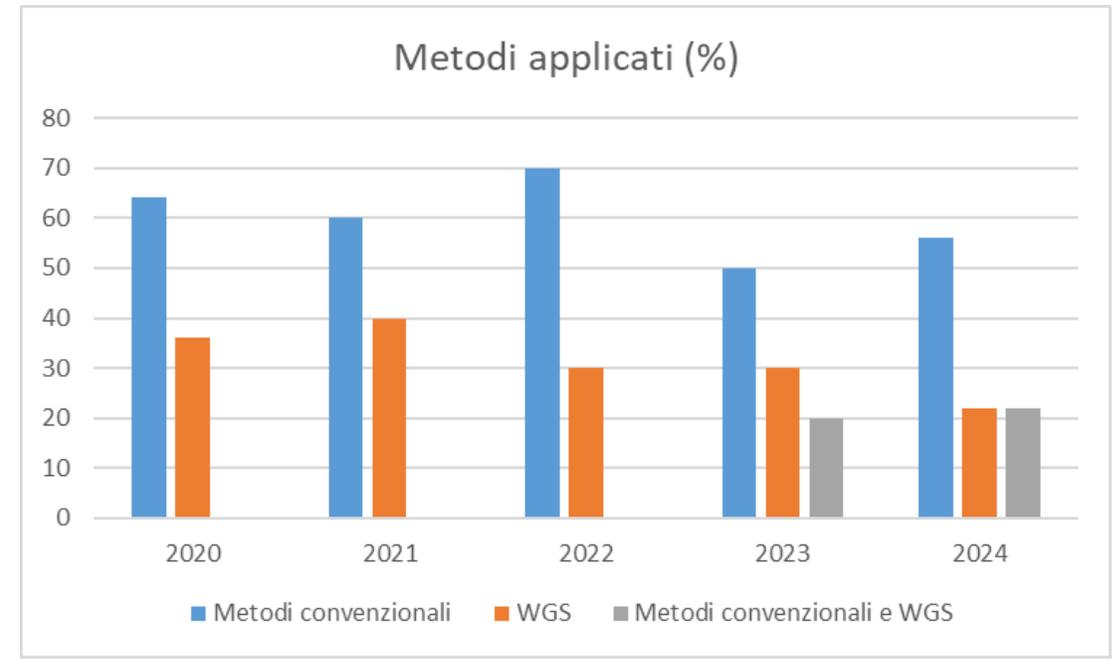
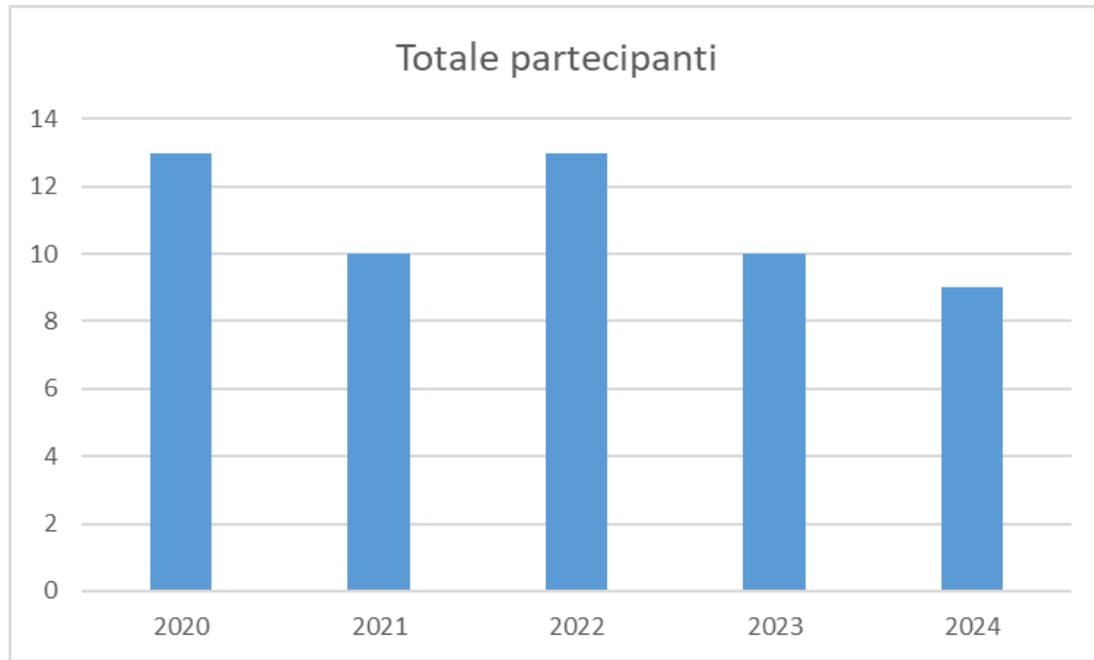
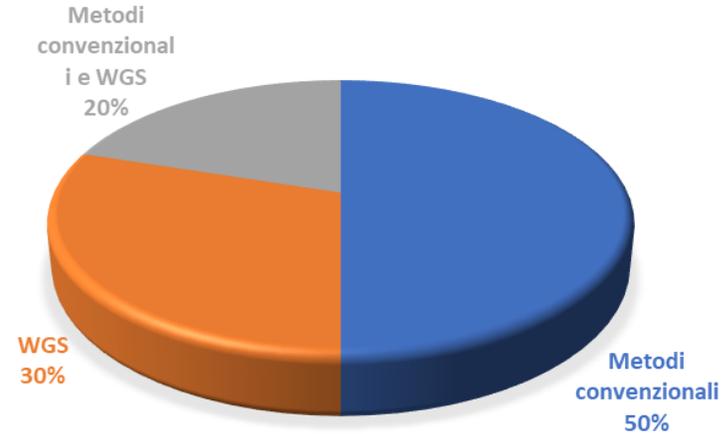


Campioni

- ✓ 6 ceppi test coltivati in agar molle
- ✓ Su richiesta sono stati distribuiti i ceppi di riferimento
- ✓ I campioni test sono stati preparati in data 26 Settembre 2024
- ✓ Controllo di omogeneità eseguito in data 2 Ottobre 2024 su 6 set di campioni selezionati casualmente
- ✓ I campioni test sono stati etichettati con codici numerici generati casualmente e spediti a temperatura ambiente in data **14 Ottobre 2024**
- ✓ Le 8 sequenze WGS test sono state messe a disposizione mediante una cartella condivisa contenente i dati grezzi in formato *.fastq* e i relativi *checksum* MD5
- ✓ Invio dei risultati ottenuti attraverso sito *web* dedicato
- ✓ **7 Gennaio 2025**: scadenza per invio dei risultati



Laboratori partecipanti e tipologia di metodo analitico



Valutazione della performance dei laboratori (geni di virulenza STEC e sierogruppo)

- **4 punti** per ogni risultato errato o mancante riguardante l'identificazione della presenza dei geni stx1 e stx2.
- **2 punti** per ogni risultato errato o mancante riguardante l'identificazione dei geni eae, ipaH, aagR, aaiC, lt, sth e stp.
- **2 punti** per errori nella determinazione dei sierogruppi top-14.
- **1 punto** per ogni risultato riguardante l'identificazione dei sierogruppi, riportato come "Not Done" o "Null".
Non sono state assegnate penalità a quei laboratori che hanno riportato ONT per la determinazione del sierogruppo O86 nel ceppo 5 e O124 nel ceppo 6 in quanto questi sierogruppi cadevano al di fuori del campo di applicazione del metodo.
- **1 punto** per ogni risultato errato o mancante per l'identificazione dei sottotipi dei geni stx.



Soglia di otto punti di penalità per definire una competenza non soddisfacente



Risultati delle analisi sui ceppi test 1-4

Ceppo 1	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>	Penalità	WGS
Risultato atteso	<i>stx1</i>	O146:H21	<i>stx1c</i>		
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato		
L008	<i>stx1</i>	O146	<i>stx1c</i>	0	
L024	<i>stx1</i>	O146:H21	<i>stx1c</i>	0	
L422	<i>stx1</i>	O146	<i>stx1c</i>	0	*
L501	<i>stx1</i>	O146	<i>stx1c</i>	0	
L702	<i>stx1</i>	O146	<i>stx1c</i>	0	*
L831	<i>stx1</i>	O26	<i>stx1c</i>	2	*
L909	<i>stx1</i>	O146	<i>stx1c</i>	0	*
L996	<i>stx1</i>	O146	<i>stx1c</i>	0	
L997	<i>stx1</i>	O146	<i>stx1c</i>	0	

Ceppo 2	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>	Penalità	WGS
Risultato atteso	<i>eae; stx2</i>	O55:H9	<i>stx2f</i>		
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato		
L008	<i>eae</i>	O55	<i>stx2f</i>	4	
L024	<i>eae; stx2</i>	O55:H9	<i>stx2f</i>	0	
L422	<i>eae; stx2</i>	O55	<i>stx2f</i>	0	*
L501	<i>eae; stx2</i>	O55	<i>stx2f</i>	0	
L702	<i>eae; stx2</i>	O55	<i>stx2f</i>	0	*
L831	<i>eae; stx2</i>	-	<i>stx2f</i>	1	*
L909	<i>eae</i>	O55	-	5	*
L996	<i>eae</i>	O55	<i>stx2f</i>	4	
L997	<i>eae; stx2</i>	O55	<i>stx2f</i>	0	

Ceppo 3	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>	Penalità	WGS
Risultato atteso	<i>eae; stx1</i>	O145:H28	<i>stx1a</i>		
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato		
L008	<i>eae; stx1</i>	O145	<i>stx1a</i>	0	
L024	<i>eae; stx1</i>	O145:H28	<i>stx1a</i>	0	
L422	<i>eae; stx1</i>	O145	<i>stx1a</i>	0	*
L501	<i>eae; stx1</i>	O145	<i>stx1a</i>	0	
L702	<i>eae; stx1</i>	O145	<i>stx1a</i>	0	*
L831	<i>eae</i>	-	-	6	*
L909	<i>eae; stx1</i>	O145	<i>stx1a</i>	0	*
L996	<i>eae; stx1</i>	O145	<i>stx1a</i>	0	
L997	<i>eae; stx1</i>	O145	<i>stx1a</i>	0	

Ceppo 4	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>	Penalità	WGS
Risultato atteso	<i>eae; stx2</i>	O26:H11	<i>stx2a</i>		
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato		
L008	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a; stx2d</i>	1	
L024	<i>eae; stx2</i>	O26:H11	<i>stx2a</i>	0	
L422	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>	0	*
L501	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>	0	
L702	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>	0	*
L831	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a; stx2c; stx2d</i>	1	*
L909	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a; stx2b</i>	1	*
L996	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>	0	
L997	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>	0	

Risultati delle analisi sui ceppi test 5-6

Ceppo 5	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>	Penalità	WGS
Risultato atteso	<i>aggR; aaiC</i>	O86:H2*	-		
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato		
L008	<i>aggR; aaiC</i>	-	-	0	
L024	<i>aggR; aaiC</i>	-	-	0	
L422	<i>aggR; aaiC</i>	-	-	0	*
L501	<i>aggR; aaiC</i>	-	-	0	
L702	<i>aggR; aaiC</i>	O86	-	0	*
L831	<i>aaiC</i>	-	-	2	*
L909	<i>aggR</i>	O86	-	2	*
L996	<i>aggR; aaiC</i>	-	-	0	
L997	<i>aggR; aaiC</i>	-	-	0	

Ceppo 6	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>	Penalità	WGS
Risultato atteso	<i>ipaH</i>	O124:H30*	-		
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato		
L008	<i>ipaH</i>	-	-	0	
L024	<i>ipaH</i>	-	-	0	
L422	<i>ipaH</i>	-	-	0	*
L501	<i>ipaH</i>	-	-	0	
L702	<i>ipaH</i>	O124	-	0	*
L831	<i>ipaH</i>	124	-	0	*
L909	<i>ipaH</i>	O124	-	0	*
L996	<i>ipaH</i>	-	-	0	
L997	<i>ipaH</i>	-	-	0	

Risultati delle analisi sui genomi test A-F

SEQ_A	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>
Risultato atteso	Sì	<i>eae; stx2</i>	O80:H2	<i>stx2d</i>
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato
L422	Sì	<i>eae; stx2</i>	O80	<i>stx2d</i>
L702	Sì	<i>eae; stx2</i>	O80	<i>stx2d</i>
L831	Sì	<i>eae; stx2</i>	O80	<i>stx2a; stx2c; stx2d</i>

SEQ_B	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>
Risultato atteso	Sì	<i>stx2</i>	O171:H2	<i>stx2b; stx2c</i>
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato
L422	Sì	<i>stx2</i>	O171	<i>stx2b; stx2c</i>
L702	Sì	<i>stx2</i>	O171	<i>stx2c</i>
L831	Sì	<i>stx2</i>	O171	<i>stx2c</i>

SEQ_C	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>
Risultato atteso	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26:H11	<i>stx2a</i>
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato
L422	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>
L702	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>
L831	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a; stx2c; stx2d</i>

SEQ_D	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>
Risultato atteso	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26:H11	<i>stx2a</i>
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato
L422	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>
L702	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>
L831	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a; stx2c; stx2d</i>

SEQ_E	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>
Risultato atteso	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26:H11	<i>stx2a</i>
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato
L422	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>
L702	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>
L831	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a; stx2c; stx2d</i>

SEQ_F	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Geni di virulenza	Sierogrupo/sierotipo	Sottotipo <i>stx</i>
Risultato atteso	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26:H11	<i>stx2a</i>
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato
L422	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>
L702	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a</i>
L831	Sì	<i>eae; stx2</i>	O26	<i>stx2a; stx2c; stx2d</i>

Risultati delle analisi sui genomi test G-H

SEQ_G	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Geni di virulenza	Sierograppo/sierotipo	Sottotipo stx
Risultato atteso	No ¹	<i>eae; stx2</i>	O26:H11	<i>stx2a</i>
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato
L422	Sì	<i>stx2</i>	-	<i>stx2a</i>
L702	No	-	-	-
L831	No	-	-	-

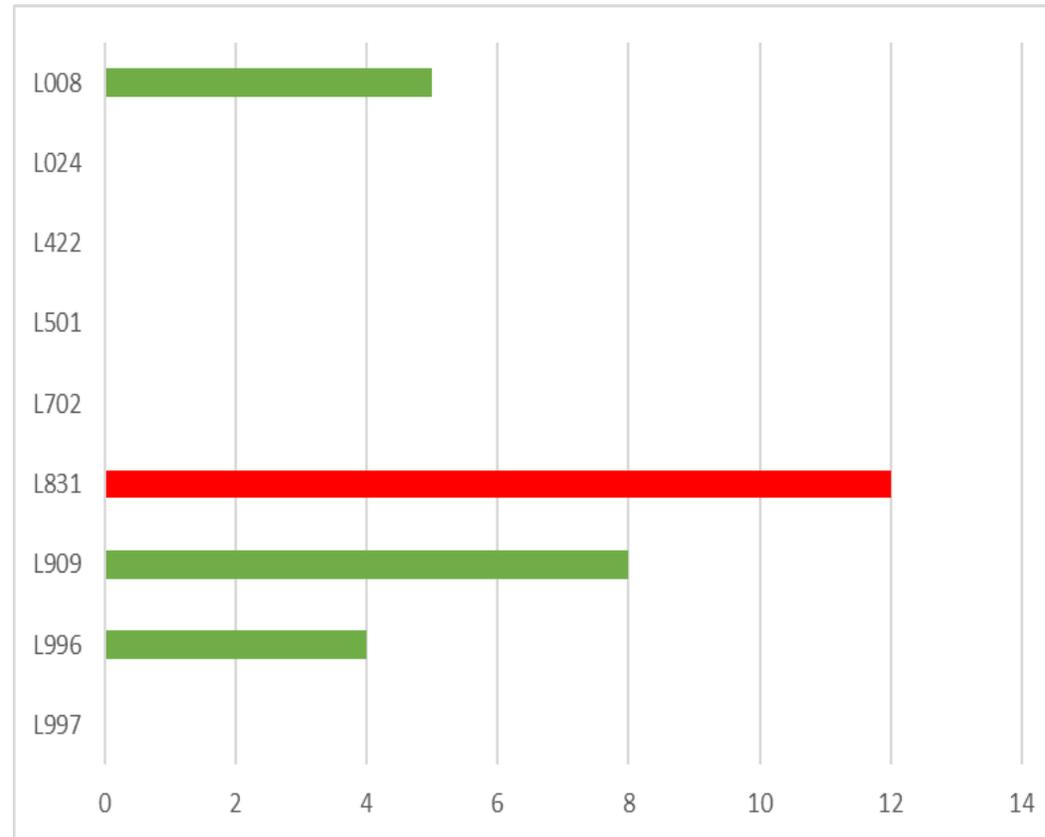
La sequenza SEQ_G non era accettabile per l'analisi perché la profondità di copertura era 14x

SEQ_H	Accettabilità in base alla qualità della sequenza	Geni di virulenza	Sierograppo/sierotipo	Sottotipo stx
Risultato atteso	No ¹	<i>eae; stx1</i>	O98:H21	<i>stx1a</i>
Labcode	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato	Risultato riportato
L422	Sì	<i>eae; stx1</i>	O98	<i>stx1a</i>
L702	No	-	-	-
L831	No	-	-	-

La sequenza SEQ_H non era accettabile per l'analisi perché la sequenza genomica del ceppo di *E. coli* era contaminata da sequenze di *Enterobacter asburiae*

Per questi motivi, la caratterizzazione e l'analisi dei cluster per questi genomi non erano richieste

Valutazione della competenza



La barra rossa indica una competenza non soddisfacente (>8)

Analisi filogenetica

Esercizio volontario

Analisi della correlazione tra tutti i campioni: 6 ceppi e 8 genomi

Metodi: basati su analisi WGS: analisi SNPs o cgMLST (o entrambe)

Invio di informazioni sui campioni che formano un cluster:

- Indicazione per ogni campione sull'appartenenza al cluster (Sì/No)
- Intervallo di differenze alleliche o di SNPs all'interno del cluster

Interpretazione del cluster lasciata ai laboratori partecipanti



Strategie utilizzate dai laboratori partecipanti per l'analisi filogenetica

	Ceppo 1	Ceppo 2	Ceppo 3	Ceppo 4	Ceppo 5	Ceppo 6	SEQ_A	SEQ_B	SEQ_C	SEQ_D	SEQ_E ¹	SEQ_F		
Risultato atteso	No	No	No	Sì	No	No	No	No	Sì	Sì	Sì	No		
Labcode	Risultati riportati											Distanza	Metodo	
L422 ²	No	No	No	No	No	No	No	No	Sì	Sì	Sì	No	0-15 SNPs	cgMLST & SNPs
L702	No	No	No	Sì	No	No	No	No	Sì	No	No	No	0-5 AD e 0-15 SNPs	cgMLST & SNPs
L831 ³	No	No	No	Sì	No	No	No	No	Sì	Sì	Sì	No	0-4 AD	cgMLST

Caselle rosse: risultati errati; **Caselle arancioni:** il risultato di cluster si riferisce a due cluster differenti;

¹SEQ_E era l'unica sequenza prodotta con sequenziamento “single-end” tra quelle distribuite;

²L422 ha eseguito l'analisi filogenetica separatamente per i due gruppi di campioni, non confrontando tra loro le sequenze prodotte dal proprio laboratorio per i campioni inviati come ceppi e le sequenze fornite dall'LNR per *E. coli*;

³L831 ha riportato in nota di aver identificato due clusters diversi, uno comprendente il ceppo 4 e SEQ_C e l'altro comprendente SEQ_D e SEQ_E.



Conclusioni/1

- ✓ **Buon livello di partecipazione al circuito.** Interesse e collaborazione da parte del network.
- ✓ **Ottima competenza** relativamente all'identificazione dei **geni di virulenza dei ceppi STEC** e alla determinazione del **sierogruppo**, ma ancora errori (3 laboratori) nell'identificazione dei **geni *stx2* appartenenti al sottotipo *stx2f*** (ceppo 2), importante perché identificato anche in ceppi isolati da pazienti affetti da **Sindrome Emolitico Uremica**. Metodi specifici sono disponibili sul sito dell'EURL-VTEC.
- ✓ Tutti i laboratori sono stati in grado di **identificare correttamente i geni di virulenza** caratteristici degli *E. coli* enteroaggregativi (**EAEC**) ed enteroinvasivi (**EIEC**), con la sola eccezione di due laboratori che hanno identificato solamente uno dei due geni caratteristici degli EAEC.



Conclusioni/2

- ✓ Due dei tre laboratori partecipanti all'esercizio volontario di caratterizzazione delle sequenze genomiche (L702 e L831) hanno identificato correttamente come non accettabile la qualità delle sequenze SEQ_G e SEQ_H.
- ✓ **Due dei tre laboratori partecipanti (L422 e L702) hanno eseguito correttamente la caratterizzazione di tutte le sequenze fornite.** Il terzo laboratorio (L831) ha riportato errori soprattutto nell'identificazione dei sottotipi dei geni *stx*.
- ✓ **Nessuno dei tre laboratori partecipanti all'esercizio volontario di analisi filogenetica ha identificato correttamente il cluster** composto dai campioni: ceppo test 4, SEQ_C, SEQ_D e SEQ_E. Verrà posta particolare attenzione sull'interpretazione dei dati di analisi filogenetiche nelle prossime edizioni dei corsi dedicati all'analisi di dati WGS organizzati dal LNR.



***Grazie per la continua collaborazione
e per l'attenzione!***



**Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio Nazionale di Riferimento per *E. coli*,
Reparto di Sicurezza microbiologica degli alimenti e malattie a trasmissione alimentare,
Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria**

