

PVI-01: “Ricerca di larve di *Trichinella* nelle carni mediante digestione artificiale”

Istruzioni

Lo schema di PVI è gestito attraverso una pagina web dedicata (<https://pt-crlp.iss.it/>).

Ogni partecipante è registrato nel sistema e detiene le credenziali di login per accedere alla pagina web.

Per ottenere le credenziali inviare una richiesta, via e-mail, al responsabile dello schema di PVI. Una volta ricevute le credenziali il partecipante può compilare la scheda identificativa. FASE 1 DEL DIAGRAMMA DI FLUSSO RIPORTATO SOTTO

OGGETTI DI PVI

Descrizione. Ogni oggetto di PVI consiste di una polpetta di carne macinata (suina o equina) del peso di 35 o 100 grammi, contaminato o no con larve vitali di *Trichinella spiralis*.

Produzione. La matrice è composta da polpette di carne macinata di suino o equino, priva di tendini e grasso, dal peso di 35 o 100 grammi (secondo le richieste del partecipante). L'analisi consiste in larve vitali di *Trichinella spiralis* ottenute attraverso la digestione peptica artificiale della carcassa di un topo infettato sperimentalmente. La digestione peptica artificiale è svolta in conformità alla procedura descritta nella norma di riferimento UNI EN ISO 18743:2023.

Distribuzione. Le larve raccolte vengono poste in una capsula Petri, controllate, contate al microscopio da dissezione e trasferite, con una micropipetta, su un vetrino da orologio e successivamente nella polpetta, in cui è stato prodotto un incavo, lavando il vetrino con 150µL di PBS (tampone fosfato salino). Il vetrino viene quindi controllato al microscopio per assicurarsi che non vi siano rimaste larve adese. L'incavo della polpetta viene quindi chiuso. Nel caso di oggetti di PVI negativi, la polpetta non viene contaminata con le larve.

Etichettatura. Ogni oggetto di PVI così preparato viene inserito in una busta di plastica, sigillato sottovuoto per garantire la conservazione della carne e assicurare la sopravvivenza delle larve. Ogni busta di plastica è etichettata con un codice che non è associato al livello di contaminazione.

Omogeneità. Poiché gli oggetti di PVI sono preparati individualmente, l'omogeneità è assicurata dalla conta dei parassiti, da inserire nella matrice, effettuata allo stereomicroscopio da due operatori.

Imballaggio. Tutti gli oggetti di PVI destinati ad uno stesso partecipante, vengono inseriti in una busta di plastica più grande, anch'essa sigillata sottovuoto. Il panel di PVI (composto da tre oggetti di PVI) è posto in un contenitore di polistirolo e cartone. All'interno del contenitore vengono poste mattonelle refrigeranti in numero adeguato a garantire il mantenimento di una temperatura compresa tra i +4°C ed i +15°C all'interno del pacco durante la spedizione.

Stabilità e controllo della qualità. La stabilità degli oggetti di PVI, così confezionati, è stata valutata con esperimenti *ad hoc* effettuati dall'organizzatore della PVI (EURL-P) su oggetti di PVI sigillati sottovuoto e conservati in un intervallo di temperatura compreso tra +4°C e +15°C. I controlli di qualità prevedono che personale dell'organizzatore della PVI analizzi gli oggetti di PVI due volte l'anno. Tali oggetti di PVI vengono preparati contestualmente a quelli inviati ai partecipanti ed analizzati entro la stessa data di scadenza stabilita.

RICHIESTA DI PARTECIPAZIONE

Nella pagina web dedicata sono riportate le date dello schema della PVI, generalmente sette ogni anno. Il partecipante, una volta registrato nella pagina web dedicata, sottomette autonomamente la richiesta di partecipazione, scegliendo la tipologia di carne (suino o equino) e il peso desiderato (35g o 100g). FASE 2 DEL DIAGRAMMA DI FLUSSO RIPORTATO SOTTO

CONSERVAZIONE DEGLI OGGETTI DI PVI

- Conservare gli oggetti di PVI ad una temperatura compresa tra +4°C e +15°C fino al momento dell'analisi
- Verificare l'imballaggio ed il suo contenuto: tre oggetti di PVI etichettati e posti sottovuoto, e la temperatura nel pacco al momento dell'apertura compresa tra +4°C e +15°C
- Compilare il modulo di ricezione disponibile nella pagina web. FASE 3 DEL DIAGRAMMA DI FLUSSO RIPORTATO SOTTO
- In caso di difformità compilare il modulo di reclamo disponibile sul sito dell'EURLP (PTP) all'indirizzo: https://www.iss.it/documents/20126/6678302/Reclamo+Appello+%28rev+1%29+MO_MAQ_10_IT.pdf/afbe54ca-e96c-cbe8-01e5-8292ea7755a5?t=1716802008339 oppure contattare via e-mail il responsabile della PVI.

ANALISI DEGLI OGGETTI DI PVI

1. Trattamento degli oggetti di PVI:

- trattare gli oggetti di PVI come se fossero campioni di prova ad eccezione del processo di omogeneizzazione meccanica che deve essere sostituito da quella manuale (utilizzando una bacchetta o una spatola)
- registrare i codici riportati sul confezionamento primario di ogni oggetto di PVI (codice identificativo dell'oggetto di PVI)
- maneggiare gli oggetti di PVI seguendo le procedure di sicurezza richieste per i materiali biologici infettivi, indossare dispositivi di protezione individuale (camice, guanti, mascherina).

2. Analisi: eseguire l'analisi entro cinque giorni dalla data di produzione (stessa data della spedizione). Applicare il metodo riportato nella norma UNI EN ISO 18743:2023 o uno dei metodi equivalenti basati sulla digestione peptica e l'osservazione diretta delle larve. Si raccomanda di eseguire l'analisi quando l'oggetto di PVI raggiunge la temperatura ambiente per evitare un forte abbassamento della temperatura del fluido digestivo al momento dell'introduzione dell'oggetto di PVI. Si ricorda che l'acido cloridrico deve essere manipolato sotto una cappa chimica.

3. Risultati: come riportato nella norma di riferimento UNI EN ISO 18743:2023, i risultati della digestione artificiale sono espressi qualitativamente, come "positivo" se vengono rilevate larve di *Trichinella* o "negativo" se non sono presenti larve. Ai partecipanti è richiesto di indicare anche il numero di larve reperite in ciascun oggetto di PVI. Per riportare i risultati è stata predisposta una pagina dedicata nell'area riservata del sito web. FASE 4 DEL DIAGRAMMA DI FLUSSO RIPORTATO SOTTO

4. Scadenze:

- la produzione e la spedizione vengono effettuate di lunedì
- gli oggetti di PVI dovrebbero arrivare al partecipante in 48-72 ore
- la data di scadenza per la sottomissione dei risultati è indicata nella sezione "scheda di richiesta" del sito dedicato, generalmente una settimana dopo la data di produzione. Non è consentito inserire i risultati dopo la data indicata
- il rapporto finale di PVI è disponibile sul sito web dell'EURL-P (<https://www.iss.it/it/eurlp-prove-valutative-interlaboratorio>) a partire da 20 giorni successivi alla scadenza della sottomissione dei risultati.

5. Valutazione delle prestazioni: il risultato è considerato "corretto" se il partecipante identifica correttamente gli oggetti di PVI contaminati o non con le larve e "non corretto" in caso di falsi positivi o falsi negativi. Il partecipante esprime i risultati indicando il numero di larve identificate in ogni oggetto di PVI per permettere all'organizzatore della PVI una più accurata valutazione della prestazione del partecipante. L'organizzatore della PVI, a causa dell'esiguo numero di larve contenute negli oggetti di PVI, non applica nessun parametro statistico per la valutazione dei risultati. Il risultato viene valutato rispetto al valore assegnato dall'organizzatore della PVI. La valutazione finale è "positiva" se tutti gli oggetti di PVI sono identificati correttamente, altrimenti la valutazione è "negativa".

6. Rapporto di PVI: l'organizzatore della PVI produce un Rapporto finale di PVI che include, per ogni partecipante, le seguenti informazioni: i) numero di larve attese per ogni oggetto di PVI; ii) numero di larve identificate dal partecipante per ogni oggetto di PVI; iii) valutazione finale e iv) raccomandazioni basate sulla prestazione e un riepilogo delle prestazioni dei partecipanti nei diversi cicli dello schema di PVI. Per garantire la riservatezza ogni partecipante è identificato con un codice alfanumerico modificato annualmente. Il rapporto finale di PVI è pubblicato sul sito web dell'EURL-P (<https://www.iss.it/it/rapporti-finali-prove-valutative-interlaboratorio>).

Nota bene: qualora lo stesso partecipante richieda più pannelli di PVI nello stesso circuito, al codice del partecipante viene aggiunta la numerazione progressiva per ogni pannello aggiuntivo (CDX-01, CDX-02, CDX-nn).

7. Follow up: nel caso di esito negativo, l'organizzatore della PVI contatta il partecipante che non ha superato la PVI e invia un link ad un questionario in cui il partecipante è invitato ad analizzare le cause dell'esito negativo e ad indicare le azioni correttive previste o effettuate.

8. Riservatezza: I rapporti di PVI sono conservati dall'EURL-P per 10 anni. Il personale dell'organizzatore della PVI sottoscrive l'impegno alla riservatezza dei dati acquisiti. Nel rapporto finale di PVI i partecipanti sono identificati da codici alfanumerici. L'organizzatore della PVI si riserva il diritto di fornire, su richiesta, i risultati del partecipante all'ente di accreditamento (Accredia). In tal caso, l'organizzatore della PVI informa per iscritto il partecipante. **L'organizzatore della PVI fornisce sempre i risultati del partecipante all'autorità competente (Ministero della Salute).**

Per informazioni o problemi relativi all'accesso al sito web, contattare:

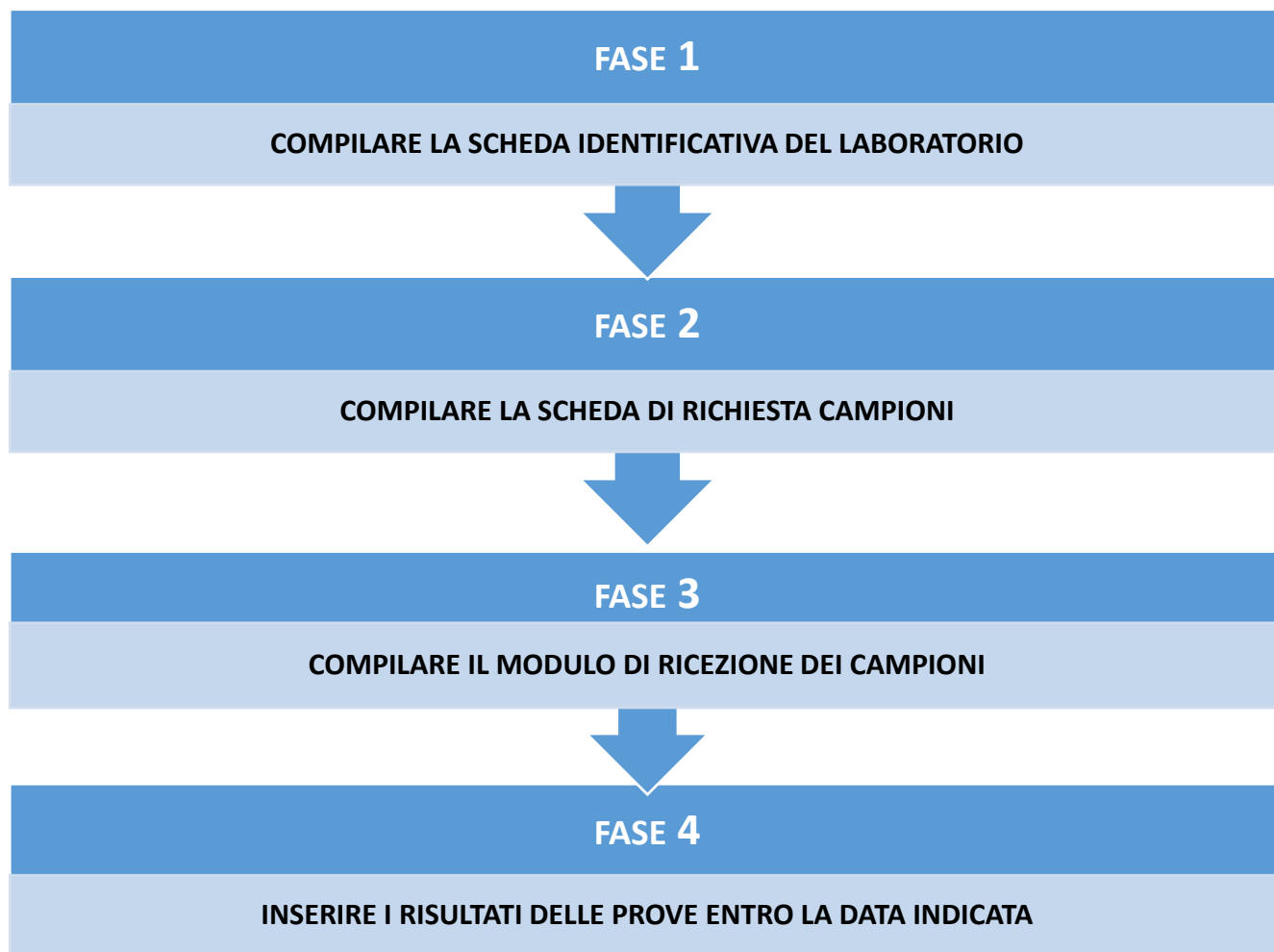
Dott. Gianluca Marucci

e-mail: gianluca.marucci@iss.it

Flusso operativo

Seguire attentamente le istruzioni riportate di seguito, compilando tutte le schede.

Ogni partecipante/laboratorio e tutti i dati che lo riguardano (risultati, rapporti, ecc.) saranno identificati da un codice univoco (es: L12).



Fase 1 - Scheda identificativa

Il partecipante/laboratorio ammesso a partecipare alla PVI deve compilare la scheda identificativa con i propri dati.

Proficiency Testing

Area riservata - Laboratorio : trichi-iss

◀ Pagina iniziale : Scheda identificativa laboratorio

Istituto/azienda (*)	<input type="text" value="Istituto Superiore di Sanità"/>
Laboratorio (*)	<input type="text" value="EURLP"/>
Indirizzo (*)	<input type="text" value="Viale Regina Elena, 299"/>
CAP (*)	<input type="text" value="00161"/>
Stato (*)	<input type="text" value="Italy"/>
Città (*)	<input type="text" value="Roma"/>
Telefono (*)	<input type="text" value="+3949902304"/>
Fax (*)	<input type="text" value="+3949903561"/>
E-mail (*)	<input type="text" value="simone.caccio@iss.it"/>
URL	<input type="text"/>
Nome responsabile	<input type="text" value="Simone"/>
Cognome responsabile	<input type="text" value="Cacciò"/>
Note	<input type="text"/>

Dati Fiscali

Indirizzo (^)	<input type="text"/>
CAP (^)	<input type="text"/>
Stato (^)	<input type="text"/>
Città (^)	<input type="text"/>
Telefono (^)	<input type="text"/>

Nella sezione in basso il partecipante/laboratorio può inserire i dati relativi al responsabile ed alla/e altra/e persona/e eventualmente da contattare.

	Nome	Cognome	Telefono	Email	Tipo contatto
Seleziona	<input type="text" value="Edoardo"/>	<input type="text" value="Pozio"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text" value="Responsabil"/>
Elimina	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Inserisci	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Reset	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Fase 2 - Richiesta di partecipazione a PVI o di invio campioni per altri scopi

Dalla pagina principale si può accedere alle sezioni dedicate all'iscrizione alle PVI ed alla richiesta di campioni a vario titolo (validazione, addestramento, visite ispettive ente accreditante).

La sezione **Elenco dei campioni richiesti PVI** permette di sottoscrivere la partecipazione alle PVI dedicate ai laboratori italiani, con possibilità di scegliere una data tra quelle proposte dall'organizzatore.

Per inoltrare una nuova richiesta cliccare su **Richiesta PVI** e comparirà il **Modulo di richiesta** che consente al partecipante di scegliere la data d'invio dei campioni fra quelle indicate e la tipologia dei campioni (carne suina od equina, campioni di 35g o 100 g). Cliccando su **Inserisci** il partecipante inoltra la richiesta all'organizzatore della PVI (EURL-P). Tale richiesta deve essere inoltrata **almeno 21 giorni prima della data prevista per l'invio**. Il partecipante può cancellare la richiesta cliccando su **Elimina** con sufficiente anticipo rispetto alla data che era stata prescelta (almeno 7 giorni). Dopo tale termine, l'invio sarà comunque effettuato ed il costo addebitato al partecipante.

Proficiency Testing

Area riservata - Laboratorio :

Data richiesta	Data prescelta	Programmata	Tipo campione	Peso
Mostra Elimina				

Richiesta PVI

Richiesta PVI NRLs (solo per laboratori nazionali di riferimento)

Area riservata - Laboratorio : trichi-iss

[◀ Pagina iniziale](#) : [Elenco delle richieste](#) : [Scheda richiesta](#)

Scheda di richiesta PVI

Data	<input type="text"/>
Tipo campione	<input type="text"/>
Peso	<input type="text"/>
Note	<input type="text"/>

[Inserisci](#) [Annulla](#)

La sezione **Elenco dei campioni richiesti** permette di effettuare richieste di campioni per scopi diversi dal PT (validazione, addestramento, visite ispettive ente accreditante)

Per richiedere un invio selezionare:

- 1) la data di invio dei campioni tra quelle disponibili;
- 2) il tipo di campioni (carne suina od equina, campioni di 35 o 100 g);
- 3) con o senza larve di *Trichinella*;
- 4) il numero dei campioni e cliccare su **Inserisci**.

Il software non accetta richieste fatte con un anticipo inferiore a 21 giorni rispetto alla data di invio disponibile. Il laboratorio può cancellare la richiesta cliccando su **Elimina** con sufficiente anticipo rispetto alla data che era stata prescelta (almeno 7 giorni). Dopo tale termine, l'invio sarà comunque effettuato ed il costo addebitato al laboratorio.

Area riservata - Laboratorio : trichi-iss

◀ Pagina iniziale : Elenco delle richieste

	Data	100g Su.	100g Eq.	35g Su.	35g Eq.	100g Su.(*)	100g Eq.(*)	35g Su.(*)	35g Eq.(*)
Mostra	Elimina	26/03/2012	5		3				
						(*) neg	(*) neg	(*) neg	(*) neg

[Nuova richiesta...](#)

Area riservata - Laboratorio : iss_eurlp - L12

◀ Pagina iniziale : Elenco delle richieste : Scheda richiesta

Scheda di richiesta

Data prescelta	17/02/2011 ▼
Numero di campioni di 100 g di carne suina contenenti larve di Trichinella	<input type="text" value="2"/>
Numero di campioni di 100 g di carne equina contenenti larve di Trichinella	<input type="text" value="2"/>
Numero di campioni di 35 g di carne suina contenenti larve di Trichinella	<input type="text" value="4"/>
Numero di campioni di 35 g di carne equina contenenti larve di Trichinella	<input type="text" value="3"/>
Numero di campioni di 100 g di carne suina senza larve di Trichinella	<input type="text" value="8"/>
Numero di campioni di 100 g di carne equina senza larve di Trichinella	<input type="text" value="1"/>
Numero di campioni di 35 g di carne suina senza larve di Trichinella	<input type="text" value="1"/>
Numero di campioni di 35 g di carne equina senza larve di Trichinella	<input type="text" value="5"/>
Note	<input type="text"/>
<input type="button" value="Salva"/>	

Le richieste di partecipazione a PVI e quelle per campioni a vario titolo vengono riassunte e visualizzate in una tabella nella relativa sezione.

Fase 3 – Inserimento dei dati relativi al ricevimento dei campioni

La sezione **Elenco degli invii, risultati e stampa del rapporto** riassume le partecipazioni a PVI e le richieste di campioni a vario titolo effettuate dal partecipante/laboratorio, indicando la data di invio dei campioni, del loro arrivo in laboratorio e, nel caso di PVI, del termine ultimo di invio dei risultati all'EURL-P.

Area riservata - Laboratorio : iss_eurlp - L12

◀ Pagina iniziale : Elenco degli invii

	Servizio	Data di invio	Data di arrivo	Data ultima di invio risultati
Stampa Mostra	Formazione	17/02/2011		24/02/2011
Stampa Mostra	Formazione	27/02/2011		07/03/2011
Stampa Mostra	Validazione metodo ufficiale	14/02/2011		21/02/2011

Cliccando sul pulsante **Mostra**, il partecipante/laboratorio accede ad una pagina che contiene il **Modulo di ricevimento campioni** e la **Tabella dei risultati**.

Nel **modulo ricevimento campioni** il partecipante/laboratorio deve inserire le informazioni relative al ricevimento dei campioni, ossia:

- Data di arrivo
- Ora di apertura del pacco
- Controllo del contenuto del pacco
- Condizioni del contenuto (sottovuoto e refrigerazione dei campioni)
- Conformità del contenuto

Area riservata - Laboratorio : iss_eurlp - L12

◀ Pagina iniziale : Elenco degli invii : Scheda invio

Data di invio	<input type="text" value="01/02/2011"/>		
Data di arrivo	<input type="text"/>		
A che ora il pacco è stato aperto? (es. 15.30)	<input type="text"/>		
Note	<input style="width: 100%;" type="text"/>		
Il pacco contiene il numero di campioni richiesti	<input checked="" type="radio"/> Sì <input type="radio"/> No	Note	<input style="width: 100%;" type="text"/>
I campioni sono ancora sotto vuoto	<input checked="" type="radio"/> Sì <input type="radio"/> No	Note	<input style="width: 100%;" type="text"/>
Nel pacco i campioni sono ancora refrigerati (temperatura <10°C)	<input checked="" type="radio"/> Sì <input type="radio"/> No		
<input type="button" value="Salva"/>			

Cliccando su **salva** il partecipante/laboratorio conferma i dati inseriti e li invia all'EURL-P.

Fase 4 – Inserimento dei risultati

Nella **Tabella Risultati** vengono elencati i campioni contenuti nell'invio (codice identificativo, tipo, peso), sono presenti le colonne relative al numero di larve atteso ed osservato che vengono populate solo successivamente all'inserimento dei risultati da parte del partecipante/laboratorio.

Risultati

	Codice	Tipo	Grammi	No. di larve atteso	No. di larve osservato
Mostra	9432	Maiale	100	2	0
Mostra	9346	Maiale	100	4	4
Mostra	5119	Maiale	100	5	4
Mostra	9448	Maiale	100	10	9
Mostra	6190	Maiale	100	0	0
Mostra	5320	Maiale	100	0	0

Cliccando su **Mostra** apparirà la scheda relativa al singolo campione, nella quale il partecipante/laboratorio deve inserire il numero di larve reperito nel campione mediante la prova, ed il metodo utilizzato per eseguirla. Vi è anche un campo note nel quale il partecipante/laboratorio può inserire commenti, osservazioni, ecc. se lo ritiene necessario.

Area riservata - Laboratorio : iss_eurlp - L12

◀ [Pagina iniziale](#) : [Elenco degli invii](#) : [Scheda invio](#) : [Risultati](#)

Campione : 5604

Tipologia di campione	<input type="text" value="Cavallo"/>
Grammi	<input type="text" value="100"/>
Numero di larve reperite nel campione	<input type="text" value="0"/>
Metodo	<input type="text" value="Metodo dell'agitatore magnetico con digestione artificiale di campioni aggregati"/>
Note	<input type="text"/>

Cliccando su **Salva** i risultati delle prove vengono registrati. I dati inseriti possono essere modificati soltanto fino alla scadenza indicata nella scheda *Elenco delle richieste di invio*.

Stampa della valutazione dei risultati

Per ogni invio è possibile stampare la valutazione dei risultati, cliccando su **Stampa** nella scheda dell'**Elenco degli invii** (vedi punto 3).

Nel caso delle PVI, il documento generato non ha valore di Rapporto di PVI.

I risultati delle PVI vengono valutati esclusivamente nel Rapporto finale di PVI disponibile sul sito dell'EURLP <https://www.iss.it/-/pvi-01-ricerca-di-larve-di%C2%A0trichinella%C2%A0in-campioni-di-carne-mediante-digestione-artificiale>