

**Risultati del 23° test inter-laboratorio nazionale (PT23)  
sull'identificazione e la tipizzazione  
di ceppi di *Escherichia coli* patogeni,  
inclusi *E. coli* produttori di Shigatossina (STEC) - 2019**

**A cura di:**

*Silvia Arancia, Arianna Boni, Gianfranco Brambilla, Paola Chiani, Clarissa Ferreri,  
Guendalina Fornari Luswergh, Fabio Galati, Federica Gigliucci, Antonella Maugliani, Valeria Michelacci,  
Fabio Minelli, Margherita Montalbano Di Filippo, Stefano Morabito, Gaia Scavia, Rosangela Tozzoli*

## 1. OBIETTIVI DEL TEST INTERLABORATORIO

Gli obiettivi dello studio erano:

1. L'identificazione dei principali geni di virulenza dei ceppi STEC/EPEC: *stx1*, *stx2* ed *eae*.
2. L'identificazione dei geni codificanti l'adesione aggregativa degli EAEC.
3. L'identificazione di ceppi di *E. coli* appartenenti ai patogruppi ETEC ed EIEC.
4. La determinazione dei sierogruppi dei ceppi STEC inviati.
5. L'identificazione dei sottotipi dei geni *stx1* e *stx2* mediante PCR.
6. La valutazione esterna di qualità sulla tipizzazione molecolare dei ceppi mediante PFGE, per facilitare la raccolta dei dati di sorveglianza molecolare di ceppi di patogeni zoonotici isolati da alimenti e animali coordinata dall'EFSA.

In questa relazione sono presentati e valutati i risultati relativi alla ricerca e alla tipizzazione dei geni virulenza e alla determinazione del sierogruppo.

## 2. STRUTTURA DELLO STUDIO INTERLABORATORIO

Lo studio è stato condotto secondo quanto prescritto dalla norma ISO/IEC 17043:2010 “*Conformity assessment – General requirements for proficiency testing*” ed era articolato in tre parti:

1. L'identificazione dei patogruppi di *E. coli* attraverso l'amplificazione enzimatica dei seguenti geni di virulenza:
  - I geni *stx1*, *stx2* per identificare i ceppi STEC.
  - Il gene *eae* per gli EPEC e STEC.
  - I geni *aaiC* e *aggR*, coinvolti nell'adesione enteroaggregativa, per i ceppi EAEC.
  - *lt*, *st<sub>h</sub>* and *st<sub>p</sub>* per i ceppi ETEC.
  - *ipaH* per i ceppi EIEC.
2. La determinazione del sierogruppo dei ceppi STEC. L'obiettivo del PT23 era la valutazione della capacità dei laboratori ufficiali di identificare i seguenti 13 sierogruppi selezionati per la loro rilevanza epidemiologica:
  - O26, O103, O111, O145 e O157: i cosiddetti “*top five*”, perché maggiormente coinvolti nelle infezioni umane gravi.

- O45 e O121: epidemiologicamente rilevanti e considerati dalla normativa USA insieme ai “*top five*” come adulteranti nei prodotti carnei.
- O104: rilevante dopo l’epidemia verificatasi nel 2011 in Germania.
- O55, O91, O113, O128, O146: selezionati sulla base della loro prevalenza nelle infezioni umane negli ultimi cinque anni, secondo quanto riportato dallo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC).

3. L’identificazione dei sottotipi dei geni *stx*. Ai partecipanti è stato richiesto di identificare i sottotipi dei geni *stx1* (*stx1a*, *stx1c*, *stx1d*) e *stx2* (da *stx2a* a *stx2g*).

Lo studio prevedeva l’analisi di sei ceppi di *Escherichia coli* patogeni, e i Laboratori partecipanti potevano sottomettere i risultati ottenuti sia con metodi convenzionali (quelli disponibili in laboratorio o applicando le procedure disponibili sul sito web dell’EURL per *E. coli*) o ottenuti mediante Whole Genome Sequencing (WGS).

### **3. PARTECIPANTI**

Allo studio hanno aderito 9 laboratori che eseguono il controllo ufficiale degli alimenti, afferenti a 7 Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS) ed una Agenzia per la Tutela della Salute, di seguito elencati:

- IZS Abruzzo e Molise “G. Caporale”, Batteriologia e Igiene delle produzioni lattiero casearie, Teramo
- IZS Puglia e Basilicata, UO Ricerca e Sviluppo Scientifico, Foggia
- IZS Puglia e Basilicata, Sezione di Putignano (BA)
- IZS Lazio e Toscana, Laboratorio Biotecnologia applicata agli Alimenti, Roma
- IZS del Mezzogiorno, Sezione di Catanzaro
- IZS Piemonte Liguria e Valle d’Aosta, S.C. Biotecnologie, Torino
- IZS Umbria e Marche, Laboratorio Contaminanti Biologici, Perugia
- IZS Venezie, Sezione di Pordenone, Cordenons (PN)
- ATS della Città Metropolitana di Milano, Sezioni Biologia Molecolare e Microbiologia Clinica, Laboratorio di Prevenzione, Milano

## 4. MATERIALI E METODI

### 4.1. Preparazione dei campioni

I campioni oggetto di analisi erano costituiti da sei ceppi di *E. coli* (campioni 1-6), selezionati tra quelli presenti nelle collezioni batteriche dell'EURL-VTEC e controllati per i caratteri genetici e fenotipici oggetto dello studio.

Le caratteristiche dei ceppi sono riportate nella Tabella 1a e sono state considerate come “valori reali” (*gold standard*). La tabella 1b riporta i geni di virulenza identificati mediante WGS dal LNR per *E. coli*.

Per quanto riguarda la stabilità dei campioni, esperienze precedenti indicavano che l'intervallo temporale tra la preparazione e la data fissata per la presentazione dei risultati da parte dei laboratori era tale da garantire la stabilità delle caratteristiche dei ceppi batterici oggetto dello studio.

I campioni sono stati preparati il 5 Novembre 2018, erano costituiti da colture batteriche pure seminate per infissione in agar molle (0.3 % agar in terreno nutriente), incubate a 37 °C ± 1 °C per 18 ore e quindi conservate a temperatura ambiente fino alla spedizione mediante corriere, avvenuta il 13 Novembre 2018. I ceppi test sono stati identificati con codici numerici a tre o quattro cifre, assegnati casualmente e diversi per ogni laboratorio. L'omogeneità dei campioni è stata verificata testando due set di campioni selezionati in maniera casuale, per verificare la presenza di tutte le caratteristiche oggetto dello studio.

**Tabella 1a. Caratteristiche dei ceppi di *E. coli* utilizzati nello studio**

Ceppo	Patogruppo	Sierotipo	Geni di virulenza e sottotipo di <i>stx</i>								
			<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aaiC</i>	<i>lt</i>	<i>st<sub>h</sub></i>	<i>st<sub>p</sub></i>	<i>ipaH</i>
1	STEC	O111:H8	<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	+	-	-	-	-	-	-
2	STEC	O91:H10	-	<i>stx2d</i>	-	-	-	-	-	-	-
3	STEC	O103:H2	<i>stx1a</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
4	EAEC	O86:H2	-	-	-	+	+	-	-	-	-
5	ETEC/STEC	O2:H27	-	<i>stx2a</i>	-	-	-	-	-	+	-
6	EAEC	O104:H4	-	-	-	+	+	-	-	-	-

**Tabella 1b. Geni di virulenza identificati mediante WGS**

Ceppo	Geni di virulenza
1	<i>astA, cba, celB, cif, eae, efa1, ehxA, epeA, espA, espF, espl, espJ, espP, iha, katP, lpfA, nleA, nleB, nleC, prfB, stx1a, stx2a, tccP, tir</i>
2	<i>celB, espl, iha, ireA, lpfA, prfB, stx2d</i>
3	<i>cif, efa1, ehxA, espJ, etpD, katP, nleA, nleB, prfB, stx1a</i>
4	<i>aaiC, aar, aap, aatA, aggA, aggB, aggC, aggD, aggR, astA, capU, espl, iha, mchB, mchC, mchF, pic, prfB, sat</i>
5	<i>astA, ehxA, prfB, sta1, stx2a</i>
6	<i>aaiC, aap, aar, aatA, aggA, aggB, aggC, aggD, aggR, capU, sigA</i>

#### 4.2. Metodi di laboratorio

L'identificazione dei patograppi di *E. coli* è stata effettuata mediante amplificazione dei rispettivi geni *target* di virulenza, utilizzando le procedure PCR (*end point* o *real time*) disponibili nel sito web dell'EURL-VTEC, sezione *Laboratory Methods*.

Per quanto riguarda la fase di sierotipizzazione, ai laboratori partecipanti era richiesto di determinare il sierogruppo dei ceppi STEC. I partecipanti potevano applicare qualsiasi metodo sierologico o molecolare in uso presso i laboratori o la procedura per la determinazione dei 13 sierogruppi principali identificati da ECDC mediante PCR convenzionale e Real Time messa a disposizione del EURL-VTEC sul proprio sito web ([www.iss.it/vtec](http://www.iss.it/vtec)).

Analogamente, l'EURL-VTEC ha reso disponibile un metodo per l'identificazione dei sottotipi dei geni *stx* mediante PCR *end-point*, basato su quello descritto da Scheutz *et al.* (*J. Clin. Microbiol.* 2012; 50: 2951-63).

I partecipanti potevano anche applicare il WGS per caratterizzare i ceppi test e riportare i risultati ottenuti con questa tecnica.

#### 4.3. Raccolta ed elaborazione dei risultati

I laboratori hanno inviato i loro risultati direttamente via WEB, usando pagine dedicate accessibili attraverso la *Restricted Area* della sezione *Proficiency Tests* del sito web dell'EURL-VTEC ([www.iss.it/vtec](http://www.iss.it/vtec)), previo inserimento delle credenziali di accesso, inviate a ogni laboratorio insieme al codice identificativo ed alle istruzioni necessarie. Al termine del

test, i partecipanti hanno avuto la possibilità di stampare direttamente il proprio certificato individuale di partecipazione con i risultati inviati e quelli attesi.

#### **4.4. Analisi dei risultati: Valutazione della performance dei laboratori**

La performance analitica dei laboratori nella ricerca dei geni target di virulenza dei diversi patogruppi di *E. coli* è stata valutata assegnando punti di penalità per i geni eventualmente identificati in maniera errata. I punti di penalità sono stati assegnati con i seguenti criteri, basati sulla rilevanza dei diversi determinanti in termini di sanità pubblica:

- 4 punti per ogni risultato errato riguardante l'identificazione dei geni *stx*, che rappresentano i principali determinanti di virulenza dei ceppi STEC.
- 2 punti per ogni risultato errato riguardante l'identificazione degli altri geni di virulenza presi in considerazione nel PT18 (*eae*, *aggR*, *aaiC*, *ipaH*, *lt*, *st<sub>h</sub>* e *st<sub>p</sub>*).
- 2 punti per errori (inclusi i risultati "NT") nella determinazione dell'antigene somatico O di ceppi relativo ai 13 sierogruppi indicati nel paragrafo 4.2.
- 1 punto per ogni risultato riportato come "Non Eseguito". I risultati non sottomessi, lasciando campi vuoti, sono stati considerati come non eseguiti. Non è stato assegnato alcun punto di penalità per risultati non eseguiti relativi alla determinazione dei geni *aggR*, *aaiC*, *ipaH* in ceppi positivi per il gene *eae*.

La somma dei punti di penalità ottenuti nella determinazione della presenza dei geni *stx1*, *stx2* ed *eae* e nella identificazione dei 13 sierogruppi indicati in 4.2, ha generato un punteggio totale, utilizzato ai fini della valutazione della performance di ogni laboratorio. In particolare, una soglia di 4 punti è stata fissata per definire una performance non adeguata. Per quanto riguarda gli altri caratteri oggetto dello studio, eventuali punti di penalità non sono stati considerati nella valutazione dei Laboratori, ma piuttosto per identificare aree di miglioramento.

## **5. RISULTATI**

L'analisi è stata effettuata sulla base dei risultati sottomessi da nove Laboratori partecipanti allo studio. Un unico Laboratorio ha sottomesso i risultati ottenuti tramite WGS, ma ha riportato solo i risultati relativi alla presenza dei geni di virulenza associati ai ceppi STEC.

### 5.1. Identificazione dei geni di virulenza dei ceppi test

I risultati trasmessi dai Laboratori partecipanti sono riportati nelle tabelle sottostanti, una per ogni ceppo.

#### Tabella 2 (1). Identificazione mediante PCR dei geni di virulenza di *E. coli* nel ceppo 1.

Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna. Le caselle vuote in bianco indicano campi non compilati (*null*) o non eseguito (*Not Done*).

Metodo	Lab	Identificazione dei geni di virulenza nel ceppo 1:								
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aaiC</i>	<i>lt</i>	<i>st<sub>h</sub></i>	<i>st<sub>p</sub></i>	<i>ipaH</i>
	<b>Gold standard</b>	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<b>Standard</b>	L283									
	L337									
	L590									
	L683									
	L698									
	L729									
	L905									
L980										
<b>WGS</b>	L783									

**Tabella 2 (2). Identificazione mediante PCR dei geni di virulenza di *E. coli* nel ceppo 2.**

Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati. Le caselle vuote in bianco indicano campi non compilati (*null*), o non eseguito (*Not Done*).

Metodo	Lab	Identificazione dei geni di virulenza nel ceppo 2:								
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aaiC</i>	<i>lt</i>	<i>st<sub>h</sub></i>	<i>st<sub>p</sub></i>	<i>ipaH</i>
	<b>Gold standard</b>	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Standard	L283									
	L337				+	+				
	L590									
	L683									
	L698									
	L729									
	L905									
	L980									
WGS	L783									

**Tabella 2 (3). Identificazione mediante PCR dei geni di virulenza di *E. coli* nel ceppo 3.**

Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati. Le caselle vuote in bianco indicano campi non compilati (*null*), o non eseguito (*Not Done*).

Metodo	Lab	Identificazione dei geni di virulenza nel ceppo 3:								
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aaiC</i>	<i>lt</i>	<i>st<sub>h</sub></i>	<i>st<sub>p</sub></i>	<i>ipaH</i>
	<b>Gold standard</b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Standard	L283									
	L337									
	L590									
	L683									
	L698									
	L729									
	L905									
	L980									
WGS	L783									



**Tabella 2 (4). Identificazione mediante PCR dei geni di virulenza di *E. coli* nel ceppo 4.**

Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati. Le caselle vuote in bianco indicano campi non compilati (*null*). o non eseguito (*Not Done*).

Metodo	Lab	Identificazione dei geni di virulenza nel ceppo 4:								
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aaiC</i>	<i>lt</i>	<i>st<sub>h</sub></i>	<i>st<sub>p</sub></i>	<i>ipaH</i>
	<b>Gold standard</b>	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<b>Standard</b>	L283									
	L337									
	L590									
	L683									
	L698									
	L729									
	L905									
	L980									
<b>WGS</b>	L783									

**Tabella 2 (5). Identificazione mediante PCR dei geni di virulenza di *E. coli* nel ceppo 5.**

Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati. Le caselle vuote in bianco indicano campi non compilati (*null*). o non eseguito (*Not Done*).

\*I risultati negativi nell'identificazione del gene *st<sub>p</sub>* non sono stati considerati come errori nella valutazione dei penalty points: infatti il ceppo 5 è un ceppo ibrido ETEC/STEC che possiede una variante del gene *st<sub>p</sub>* che non viene identificata con il metodo di Real Time PCR pubblicato sul sito dell'EURL-VTEC, in quanto i primer presentano mismatch.

Metodo	Lab	Identificazione dei geni di virulenza nel ceppo 5:								
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aaiC</i>	<i>lt</i>	<i>st<sub>h</sub></i>	<i>st<sub>p</sub><sup>*</sup></i>	<i>ipaH</i>
	<b>Gold standard</b>	-	+	-	-	-	-	-	+	-
<b>Standard</b>	L283								-*	
	L337									
	L590									
	L683									
	L698									
	L729									
	L905									
	L980								-*	
<b>WGS</b>	L783									

**Tabella 2 (6). Identificazione mediante PCR dei geni di virulenza di *E. coli* nel ceppo 6.**

Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati. Le caselle vuote in bianco indicano campi non compilati (*null*), o non eseguito (*Not Done*).

Metodo	Lab	Identificazione dei geni di virulenza nel ceppo 6:								
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aaiC</i>	<i>lt</i>	<i>st<sub>h</sub></i>	<i>st<sub>p</sub></i>	<i>ipaH</i>
	<b>Gold standard</b>	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<b>Standard</b>	L283									
	L337		+							
	L590									
	L683									
	L698									
	L729									
	L905									
L980										
<b>WGS</b>	L783									

**Tabella 3. Risultati complessivi sull'identificazione dei geni di virulenza nei ceppi test mediante PCR.**

Le caselle verdi indicano che per il dato gene sono stati ottenuti risultati corretti per tutti i 10 ceppi test. I numeri nelle caselle rosse e bianche indicano rispettivamente i risultati errati e quelli non riportati (sia ND che *null*).

Metodo	Lab	Identificazione dei geni di virulenza nei 6 ceppi test:								
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aaiC</i>	<i>lt</i>	<i>st<sub>h</sub></i>	<i>st<sub>p</sub></i>	<i>ipaH</i>
<b>Standard</b>	L283								1	
	L337		1		1	1				
	L590									
	L683									
	L698				4	4	4	4	4	4
	L729									
	L905						5	5	5	5
L980								1		
<b>WGS</b>	L783				6	6	6	6	6	6
			1		1	10	1	10	15	15
					1	10	1	10	2	15

**Tabella 4. Identificazione dei diversi patogruppi dei ceppi test.**

Metodo	Lab	Identificazione dei patogruppi nei ceppi:					
		1	2	3	4	5	6
	Gold standard	STEC	STEC	STEC	EAEC	ETEC/STEC	EAEC
Standard	L283					STEC	
	L337		Other			ETEC	Other
	L590						
	L683						
	L698					STEC	
	L729					ETEC	
	L905					STEC	
	L980					STEC	
WGS	L783	ND	ND	ND	ND	ND	ND

## 5.2. Identificazione del sierogruppo dei ceppi test

I risultati relativi ai sierogruppi dei ceppi oggetto dello studio sono riportati nella tabella 5.

**Tabella 5. Identificazione dell'antigene O di sierogruppo.** Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna. Le caselle rosse evidenziano i risultati errati, con il risultato riportato dal Laboratorio. Le caselle bianche indicano risultati non riportati.

Metodo	Lab	Sierogruppo/sierotipo identificato nei ceppi:					
		1	2	3	4	5	6
	Gold standard	O111:H8	O91:H10	O103:H2	O86:H2	O2:H27	O104:H4
Standard	L283				ONT	ONT	
	L337	O91			O103	O157	O91
	L590				ONT	ONT	
	L683		ONT		ONT	ONT	
	L698				ONT	ONT	
	L729				O142	ONT	
	L905				ONT	ONT	
	L980		ONT			ONT	
WGS	L783	H8	H10	H2	H2		H4

## 5.2 Identificazione dei sottotipi dei geni *stx*

I risultati relativi alla determinazione dei diversi sottotipi di *stx* sono riportati nelle tabelle 6.

**Tabella 6 (1) Identificazione dei sottotipi dei geni *stx1* ed *stx2* nel ceppo 1.** Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati.

Metodo	Lab	Identificazione dei sottotipi dei geni <i>stx1</i> ed <i>stx2</i> nel ceppo 1:									
		<i>stx1a</i>	<i>stx1c</i>	<i>stx1d</i>	<i>stx2a</i>	<i>stx2b</i>	<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	<i>stx2e</i>	<i>stx2f</i>	<i>stx2g</i>
	<b>Gold standard</b>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Standard	L283										
	L337						+				
	L590		+								
	L683										
	L698	ND			ND						
	L729										
	L905										
	L980	ND			ND						
WGS	L783	ND			ND						

**Tabella 6 (2) Identificazione del sottotipo del gene *stx2* nel ceppo 2.** Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati.

Metodo	Lab	Identificazione del sottotipo del gene <i>stx2</i> nel ceppo 2:									
		<i>stx1a</i>	<i>stx1c</i>	<i>stx1d</i>	<i>stx2a</i>	<i>stx2b</i>	<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	<i>stx2e</i>	<i>stx2f</i>	<i>stx2g</i>
	<b>Gold standard</b>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Standard	L283										
	L337				+						
	L590						+				
	L683										
	L698							ND			
	L729				+		+				
	L905				+		+				
	L980							ND			
WGS	L783						ND				

**Tabella 6 (3) Identificazione del sottotipo del gene *stx1* nel ceppo 3.** Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati.

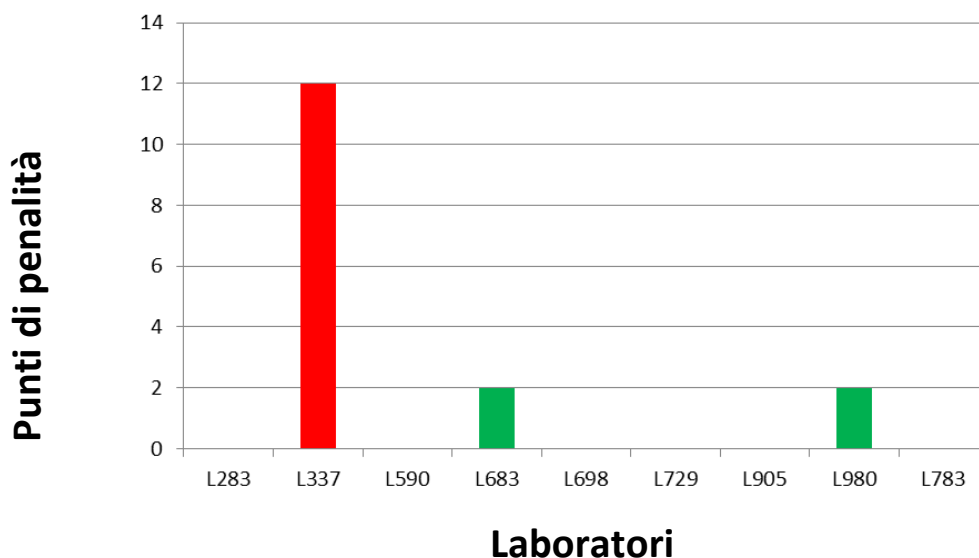
Metodo	Lab	Identificazione del sottotipo del gene <i>stx1</i> nel ceppo 3:									
		<i>stx1a</i>	<i>stx1c</i>	<i>stx1d</i>	<i>stx2a</i>	<i>stx2b</i>	<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	<i>stx2e</i>	<i>stx2f</i>	<i>stx2g</i>
	<b>Gold standard</b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Standard	L283										
	L337										
	L590		+								
	L683										
	L698	ND									
	L729										
	L905										
	L980	ND									
WGS	L783										

**Tabella 6 (4) Identificazione del sottotipo del gene *stx2* nel ceppo 5.** Le caselle verdi evidenziano i risultati corretti, in accordo con i valori riportati all'inizio di ogni colonna; le caselle rosse i risultati errati.

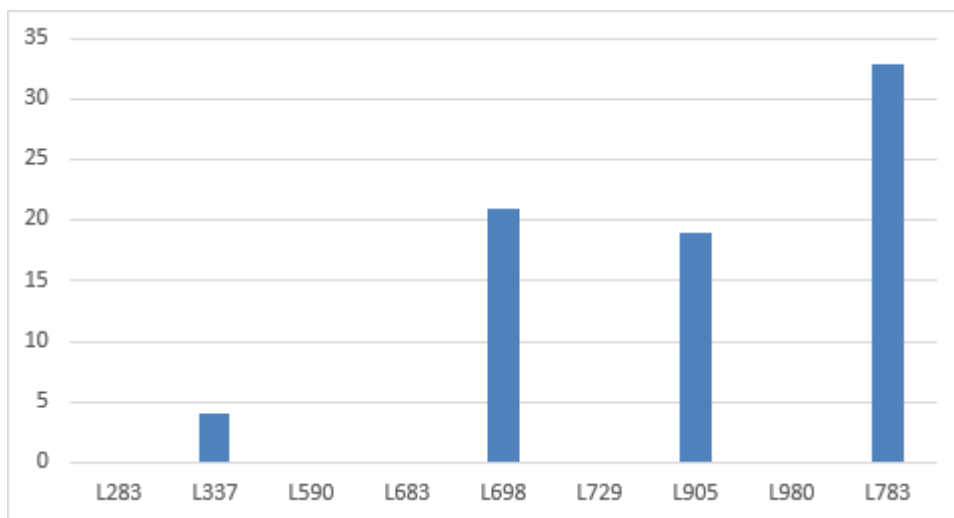
Metodo	Lab	Identificazione del sottotipo del gene <i>stx2</i> nel ceppo 5:									
		<i>stx1a</i>	<i>stx1c</i>	<i>stx1d</i>	<i>stx2a</i>	<i>stx2b</i>	<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	<i>stx2e</i>	<i>stx2f</i>	<i>stx2g</i>
	<b>Gold standard</b>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Standard	L283										
	L337						+				
	L590										
	L683										
	L698				ND						
	L729										
	L905										
	L980				ND						
WGS	L783										

## 5.2 Valutazione della *Performance* dei Laboratori partecipanti

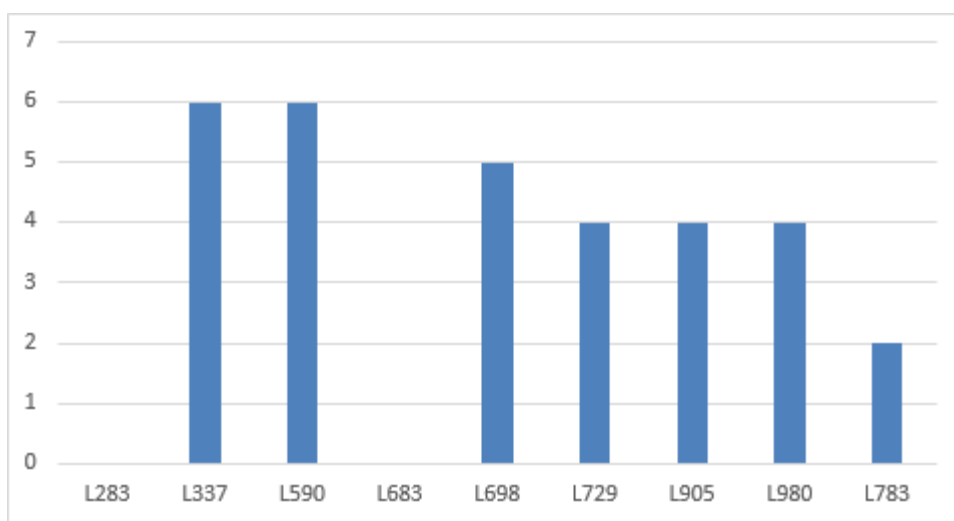
Il calcolo dei punti di penalità è stato effettuato secondo i criteri descritti al paragrafo 4.4 e ed i risultati di questa analisi sono riportati in grafico nella Figura 1.



**Figura 1. Valutazione della performance dei laboratori nell'identificazione dei geni di virulenza.** Il punteggio è stato calcolato secondo i criteri descritti al paragrafo 4.4. Le barre rosse indicano i punti assegnati per risultati errati per i laboratori la cui performance è stata considerata non adeguata, le barre verdi i punti di penalità ottenuti dai laboratori per aver riportato risultati errati la cui somma è ancora sotto la soglia.



**Figura 2. Punti di penalità assegnati ai Laboratori nell'identificazione dei geni di virulenza dei patogruppi diversi da STEC.** Il punteggio è stato calcolato secondo i criteri descritti al paragrafo 4.4. Tali penalità non sono state considerate nella valutazione della performance dei Laboratori partecipanti.



**Figura 3. Punti di penalità assegnati ai Laboratori nell'identificazione dei sottotipi dei geni *stx*.** Il punteggio è stato calcolato secondo i criteri descritti al paragrafo 4.4. Tali penalità non sono state considerate nella valutazione della performance dei Laboratori partecipanti.

## 6. CONSIDERAZIONI

1. Nove laboratori, afferenti a 7 Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS) e una Agenzia per la Tutela della Salute, hanno partecipato a questo studio inter-laboratorio sulla identificazione e caratterizzazione dei ceppi di *E. coli* patogeni.
2. Tutti i Laboratori partecipanti, ad eccezione di un partecipante (L337), hanno mostrato una capacità di identificare i ceppi di *E. coli* patogeni con particolare riferimento ai ceppi STEC adeguata.
3. L'unico Laboratorio che ha effettuato caratterizzazione mediante WGS non ha riportato i risultati relativi ai geni di virulenza dei patogruppi non STEC e altri due Laboratori non hanno effettuato la determinazione di tali geni.
4. La tipizzazione dei geni *stx* è stata effettuata dalla maggior parte dei laboratori: due partecipanti non hanno effettuato tale analisi e il Laboratorio L783 non ha riportato i risultati per tutti i ceppi. Questo rappresenta uno spazio di miglioramento che sarà preso in carico dal LNR per *E. coli*.
5. In conclusione, i risultati di questo studio confermano che la maggior parte dei laboratori partecipanti è in grado di identificare correttamente i geni di virulenza degli *Escherichia coli* diarreagenici e i principali sierogruppi dei ceppi STEC e ha messo in luce spazi di intervento per migliorare la capacità complessiva del sistema di controllo ufficiale in relazione ai ceppi di *E. coli* patogeni.