



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ'
**Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione
e Sanità Pubblica Veterinaria**

Reparto Sicurezza Microbiologica e Malattie a Trasmissione Alimentare

Laboratorio Nazionale di Riferimento per i Virus di origine Alimentare

Responsabile: dott.ssa Elisabetta Suffredini

**Nota Tecnica n°01/2019 del LNR per i Virus di origine Alimentare:
Verifica del LOD50 nella ISO 15216-2:2019**

Premessa:

- 1) Non esiste al momento attuale un approccio armonizzato e condiviso per la determinazione del LOD (LOD50 e/o LOD95) e del LOQ nell'ambito delle analisi molecolari per la determinazione dei virus negli alimenti. Tale condizione è stata sottolineata nel documento EFSA "Analysis of the European baseline survey of norovirus in oysters" (<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2019.5762>) che ha sollecitato la definizione di un approccio armonizzato.
- 2) In assenza di un approccio armonizzato per la determinazione del LOD/LOQ è possibile operare le attività analitiche per la sua definizione con modalità differenti (es. contaminazione della matrice o delle fasi intermedie dell'analisi; utilizzo di materiali quantizzati internamente dal laboratorio o, viceversa, quantizzati da altri enti).
- 3) La definizione del LOD50 del metodo ISO 15216-2:2019 è stata effettuata attingendo ai dati di validazione della ISO 15216-1:2017 (Raccomandazione 418 del CEN/TC275/WG6 del Maggio 2016, approvata dal ISO/TC34/SC9 con risoluzione 724).
- 4) Nella validazione della ISO 15216-1:2017 l'attribuzione dei valori di riferimento ("anticipated results") per i diversi livelli di contaminazione è stata effettuata mediante analisi dei campioni a più alta concentrazione da parte del medesimo laboratorio operante la cosiddetta "Parte 1 - method characterisation" della validazione. Tale procedimento implica l'utilizzo di materiali quantizzati internamente dal laboratorio e non l'utilizzo di materiali quantizzati in modo indipendente rispetto alla performance del laboratorio, come si evince dal paper riassuntivo dell'esercizio di validazione ("Validation of EN ISO method 15216 - Part1 - Quantification of hepatitis A virus and norovirus in food matrices" International Journal of Food Microbiology, Volume 288, 2 January 2019, Pages 82-90 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.014>). Inoltre, l'attribuzione di un valore di riferimento all'analita dopo aggiunta alla matrice differisce sostanzialmente dall'attribuzione di un valore di riferimento al medesimo prima della sua aggiunta alla matrice (valore di riferimento del campione analitico vs. valore di riferimento del target).



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ'
**Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione
e Sanità Pubblica Veterinaria**

Reparto Sicurezza Microbiologica e Malattie a Trasmissione Alimentare

Laboratorio Nazionale di Riferimento per i Virus di origine Alimentare

Responsabile: dott.ssa Elisabetta Suffredini

- 5) L'applicazione di modalità operative differenti nella determinazione del LOD/LOQ (es. contaminazione della matrice o delle fasi intermedie dell'analisi) ha influenza diretta sui valori determinati in quanto comporta o meno l'introduzione di variabili relative al recupero dell'analita dalla matrice, all'efficienza dell'estrazione degli acidi nucleici, alla presenza di inibenti di reazione, etc. Di contro, l'attribuzione dei valori di riferimento ("anticipated results") mediante analisi condotta dal medesimo laboratorio influisce sui valori di LOD/LOQ mediante possibile sovrastima o sottostima del target analitico (es. la sottostima del target analitico determina l'attribuzione di valori di LOD/LOQ più bassi rispetto al reale).

In considerazione di quanto premesso, **non è possibile effettuare un confronto diretto fra valori di LOD/LOQ determinati con procedure difformi** nell'esecuzione delle prove e/o nell'attribuzione dei valori di riferimento dell'analita.

Roma, 14.10.2019

Il Responsabile

dott.ssa Elisabetta Suffredini