



# **AGGIORNAMENTI DALL'EURL - FA**

**CINZIA CIVITAREALE & MAURIZIO FIORI**

**LABORATORIO NAZIONALE DI RIFERIMENTO PER GLI ADDITIVI NEI  
MANGIMI**

**VII WORKSHOP**

**LABORATORI NAZIONALI DI RIFERIMENTO PER METALLI PESANTI  
NEGLI ALIMENTI E NEI MANGIMI E ADDITIVI NEI MANGIMI**

**TORINO, 6-7 DICEMBRE 2017**

# Attività dell'EUURL-FA Control anno 2017



# Attività dell'EURL-FA Control anno 2017

- 1° PT per la determinazione del **cobalto** totale (livello autorizzato in mangime per conigli)
- 4° PT per la determinazione di **coccidiostatici**:
  - Mangime per galline ovaiole
  - Monensin, narasin e diclazuril a livello di cross-contaminazione
  - Narasin e nicarbazina a livello autorizzato

# EURL-FA Control - PTs



**Dr Ursula Vincent**  
**Project Leader European Reference Laboratory for Feed Additives (Control)**  
**(EURL-FA Control)**  
Joint Research Centre

03 Mai 2017

Data comunicazione per  
e-mail ai lab IIZZSS  
04/05/2017

**Call for participation in an inter-comparison study for the  
determination of the total mass fraction of cobalt in feed at authorised level**

Roma, 6-7/12/2017



# EURL-FA Control - PTs



**Dr Ursula Vincent**  
**Project Leader European Reference Laboratory for Feed Additives (control)**  
**(EURL-FA control)**  
Joint Research Centre

Data comunicazione per  
e-mail ai lab IIZZSS  
04/05/2017

03 Mai 2017

**Call for participation in an inter-comparison study for the  
determination of authorised coccidiostats in feed at authorised and cross-  
contamination levels**

Roma, 6-7/12/2017



# PT determinazione coccidiostatici

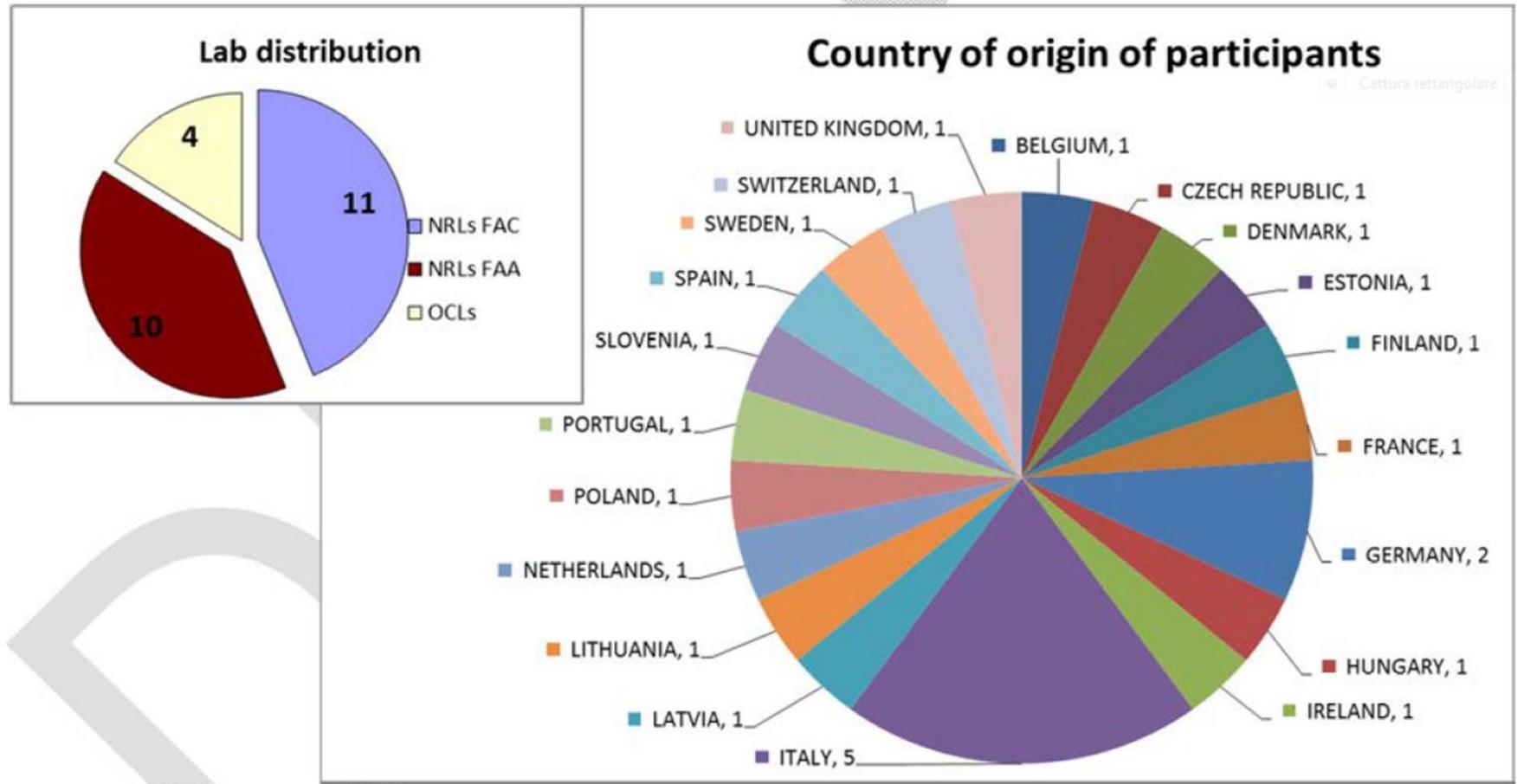
L'EURL ha garantito la partecipazione ai laboratori  $\neq$  da LNR se il loro numero è limitato (difficoltà per LNR ad organizzare PTs)

Italia - hanno partecipato

- ISS (LNR)
- IZS Lazio e Toscana
- IZS Umbria e Marche
- IZS Piemonte e Valle d'Aosta
- IZS Lombardia ed Emilia Romagna

# PT determinazione coccidiostatici

**Figure 1.** Country of origin of the participants – NRLs and non NRLs laboratories



# SCOPO

- **MAT 1** **Identificare** (screening) e **quantificare** i coccidiostatici autorizzati aggiunti al mangime per galline ovaiole a livello di cross-contaminazione
- **MAT 2** **quantificare** il narasin e la nicarbazina (Maxiban®) aggiunti al mangime per galline ovaiole a livello di additivazione
- Associare ai risultati l'incertezza estesa del laboratorio
- Correggere eventualmente il risultato per l'umidità se  $\neq$  dal 12%

I laboratori possono scegliere di utilizzare  
il metodo analitico indicato nell'autorizzazione  
il metodo interno

# SCOPO

Proficiency test exercises shall be performed by the laboratories using the method they utilize within their control strategy. However, it should always be kept in mind that in case of litigation or non-compliance statement on a sample, the National Reference Laboratory or Official Control Laboratory shall confirm its result applying the official method of analysis.

**Table 2.** Laboratory performance per analyte.

LAB Code	LAB Type	z-scores			ζ-scores		
		Monensin	Narasin	Diclazuril	Monensin	Narasin	Diclazuril
L02	NRL 2	-0.48	1.42	0.21	-0.60	1.83	0.24
L03	NRL 1	-1.01	2.84	-3.12	-0.74	1.29	-4.00
L04	NRL 1	1.22	1.73		0.31	0.49	4.00
L05	NRL 1	2.20	1.63	-2.21	0.88	1.14	-2.27
L06	NRL 1	0.71	2.06		0.95	2.51	4.00
L07	NRL 1	1.74	2.04	1.16	1.54	1.52	1.09
L08	NRL 1	-0.81	0.62	-0.41	-1.51	0.90	-0.72
L10	NRL 2	0.58	1.42	3.06	0.63	1.50	2.39
L11	NRL 1	0.70	-0.50	-0.08	0.63	-0.64	-0.10
L13	NRL 2	0.35	0.65	0.30	0.00	0.00	0.00
L14	NRL 2	-0.26	-0.14	0.78	-0.40	-0.23	1.10
L15	NRL 1	1.23	3.76	4.49	0.44	2.56	2.98
L17	NRL 1	-0.37	1.07	-0.02	-0.33	0.82	-0.02
L18	OCL	-0.36	-0.20	0.21	-0.74	-0.39	0.31
L19	NRL 2	2.25	1.46	-2.64	2.45	1.51	-4.00
L20	NRL 1	-0.88	0.85	-0.27	-2.07	0.92	-0.40
L21	NRL 2	-0.59	-0.97	0.21	-2.92	-4.00	0.44
L22	NRL 2	-0.65	-0.76		-1.07	-1.38	
L23	NRL 1	2.03	1.57		4.00	3.92	4.00
L24	OCL	-0.40	-0.41	-0.74	-0.58	-0.63	-1.10
L25	NRL 2	1.41	1.09	3.06	2.19	1.66	3.33
L26	OCL	1.36	0.22	-2.17	1.36	0.45	-4.00
L27	NRL 2	0.19	0.18	0.21	0.92	0.96	0.44
L28	NRL 2	-0.31	-2.12		-0.01	-0.04	
L29	OCL	1.02	-0.71	-0.27	0.03	-0.02	0.00

(<sup>1</sup>) NRL 1: NRLs for Control of feed additives, NRL 2: NRLs for Authorisation of feed additives, OCL: OCLs.

(<sup>2</sup>) Green:  $|z|$  or  $|\zeta| \leq 2$ , Orange:  $2 < |z|$  or  $|\zeta| < 3$ , Red:  $|z|$  or  $|\zeta| \geq 3$ .

MAT1 - RISULTATI

**Table 4.** Laboratory performance evolution across the four PTs targeting coccidiostats, per analyte.

LabCode_2017	Monensin				Narasin				Diclazuril			
	2012	2013	2014	2017	2012	2013	2014	2017	2012	2013	2014	2017
L01	Green	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Orange	Green	Red
L02	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Green	Red	Orange	Green
L03	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Red
L04	Green	Red	Green	Green	Orange	Red	Green	Green	Red	Orange	Orange	Green
L05	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Orange
L06	Red	Green	Red	Green	Orange	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green
L07	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green
L08	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L10	Green	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Red	Green	Green	Orange
L11	Orange	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L12	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L13	Red	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green
L14	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L15	Red	Red	Orange	Green	Green	Green	Red	Red	Green	Green	Green	Red
L16	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L17	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Red	Green	Orange	Green
L18	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L19	Red	Red	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Red	Red	Red	Orange
L20	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L21	Orange	Orange	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green
L22	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Green	Green
L23	Orange	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green
L24	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L25	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Orange
L26	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Orange
L27	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
L28	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Green
L29	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Green	Green	Green

NRL-FAC  
 NRL-FAA  
 OCL

MAT1 - RISULTATI

# MAT2 - RISULTATI

Narasin e nicarbazina (AL) nel MAT 2 non è stato assegnato il punteggio per mancato requisito di omogeneità del materiale

I risultati sono stati comunque esaminati

	Nicarbazin			Narasin AL		
$x_{pt} ; \sigma_{pt} (\%)$	37.327 ; 9.2			38.763 ; 9.2		
LAB	$x_i$	$u(x_i)$	k	$x_i$	$u(x_i)$	k
L02	66.800	6.100	2	64.400	8.200	2
L03	57.570	14.400	2	32.510	4.800	2
L04	44.700	14.751	1	42.800	5.564	1
L05	47.700	9.430	2	33.800	13.400	2
L06	48.477	14.540	2	55.629	13.910	2
L07	31.000	7.000	2	42.000	6.000	2
L08	43.810	8.800	2	65.420	13.100	2
L10	41.100	6.200	2	41.700	6.300	2
L11				36.800	7.360	2
L13	22.000	15.000	1	29.600	15.000	1
L14	49.400	9.880	2	47.200	9.440	2
L15						
L17	42.300	3.200	2	45.700	8.400	2
L18	30.320	2.801	2	38.100	3.501	2
L19	41.800	3.800	2	38.600	6.800	2
L20	27.368	5.321	2	36.187	6.746	2
L21	26.500			21.100		
L22				69.433	10.415	2
L23	25.827	0.312	2			
L24	30.030	6.216	2	36.465	8.241	2
L25	42.020	2.100	2			
L26	29.246	2.661	2	55.598	8.562	2.06
L27	84.000			86.300		
L28	46.500	18.000	2	51.800	12.000	2
L29	35.900	4.000	2	40.100	6.500	2

# MAT2 - RISULTATI

**Table 6.** False positive and false negative rates for each target coccidiostat.

	N	False positive rate %	False negative rate	
			%	
			True	Lack of sensitivity
Monensin	25	-	-	-
Narasin	25	-	-	-
Diclazuril	23	-	13%	-
Nicarbazin	22	5% (MAT 1)	-	-
Narasin AL	22	-	-	-
Robenidine	25	4% (MAT 1)		
Decoquinate	25	8% (MAT 1)		
Lasalocid	25	4% (MAT 1)		
Salinomycin	25	4% (MAT 1)		
Maduramicin	25	4% (MAT 1)		

*N: number of reporting laboratories*

**FALSI POSITIVI E  
FALSI NEGATIVI**

# Attività dell'EURL-FA Control anno 2017

## COLLABORATIVE STUDIES



# EURL-FA Control – Collaborative study



EUROPEAN COMMISSION  
DIRECTORATE-GENERAL  
JOINT RESEARCH CENTRE  
Directorate F - Health, Consumers & Reference Materials (Geel)  
Food & Feed Compliance



**Dr Ursula Vincent**  
**Team Leader European Reference Laboratory for Feed Additives (Control)**  
**(EURL-FA control)**  
European Commission  
Directorate General Joint Research Centre  
Directorate F - Health, Consumers & Reference Materials  
Food & Feed Compliance (F.5)

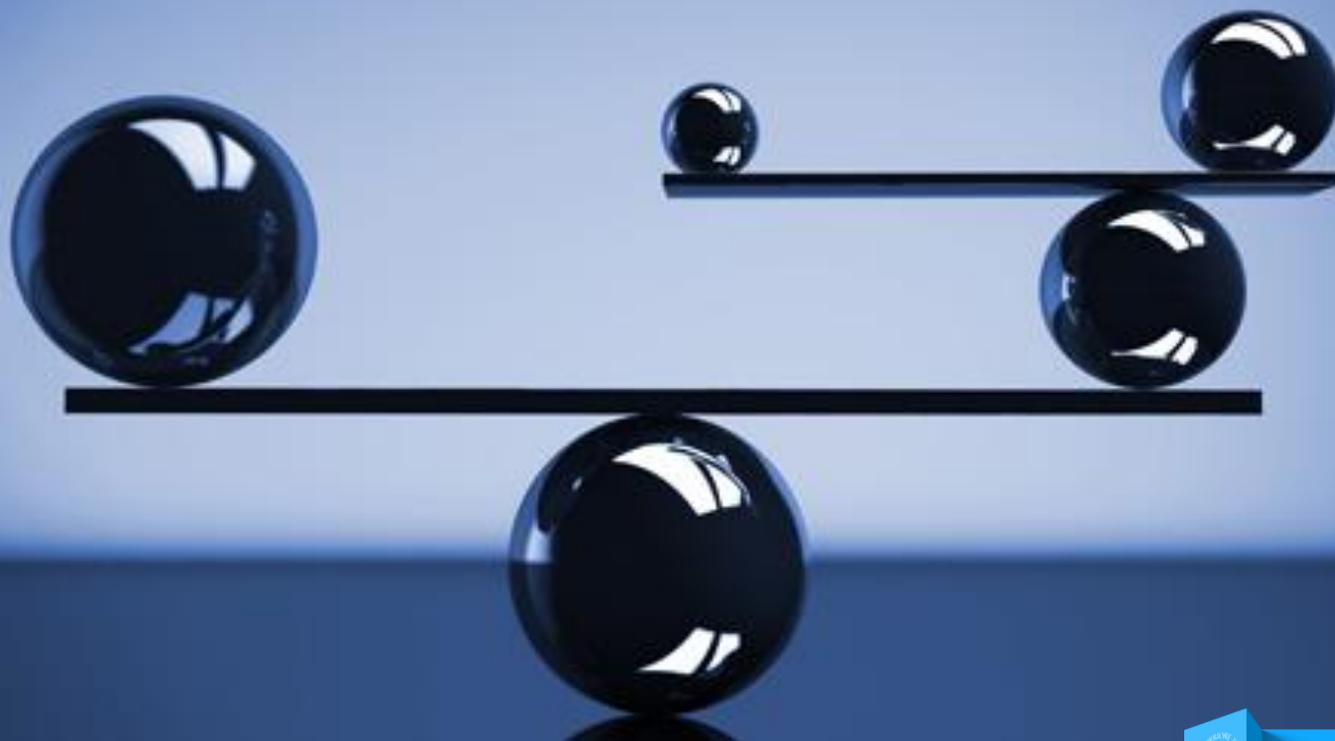
20 July 2017

Data comunicazione per  
e-mail ai lab IIZZSS e  
ICQRF - 28/07/2017

**Call for participation in a collaborative study for the  
validation of a HPLC-UV or DAD based analytical method for the  
determination of authorised carotenoids in animal feed – Framework:  
Mandate III of the European Commission to the European  
Standardisation body CEN**

# Attività dell'EUURL-FA Control anno 2017

## ATTIVITA' DI STANDARDIZZAZIONE DEI METODI ANALITICI



# EURL-FA/CEN

Carbadox/Olaquinox in mangime composto e materie prime

➤ **Proponente:** Service commun des laboratoires (SCL) 35, Rennes, Francia

➤ **Publicazione del metodo Standard**



# EURL-FA/CEN

Coccidiostatici autorizzati e vietati in mangimi composti

- Proponente: JRC-Geel, Geel, Belgio
- Collaborative trial completato, inviato il metodo per la valutazione CEN
- Scadenza prevista per la pubblicazione: dicembre 2017

# EURL-FA/CEN

## Carotenoidi in mangimi composti e premiscele

- Proponente: JRC-Geel, Geel, Belgio
- Periodo di addestramento entro 24 novembre 2017
- Periodo di validazione: gennaio-marzo 2018
- Scadenza prevista per la pubblicazione EN: dicembre 2020

# Attività dell'EURL-FA Control anno 2017

## Workshops EURL Feed Additives



European Commission

Agenda

**17<sup>th</sup> Workshop of the  
European Union  
Reference Laboratory for  
Feed Additive Authorisation**

Congress Center A. Borschette (CCAB)  
Rue Froissart 36  
Brussels

21-22 November 2017

The European Commission's  
science and knowledge service  
Joint Research Centre



Roma, 6-7/12/2017



European Commission

Agenda

**6<sup>th</sup> EURL-FA Control Workshop**

Congress Centre A. Borschette (CCAB)  
Rue Froissart 36  
Brussels

22-23 November 2017

The European Commission's  
science and knowledge service  
Joint Research Centre



Civitareale & Fiori

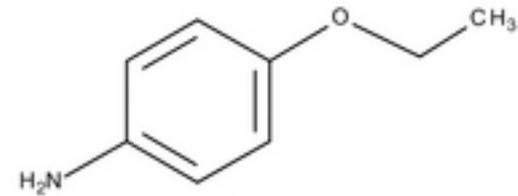


# Work programm 2018

- Sviluppo di un metodo analitico per la determinazione del *p*-fenetidina - impurezza dell'additivo Etossichina - in mangimi
- Organizzazione di uno studio collaborativo

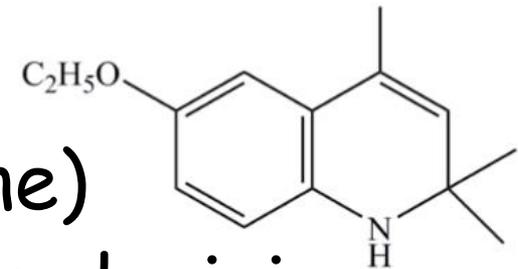
*p*-fenetidina

(EFSA - possibile mutageno)



Etossichina (6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline)

Additivo categoria: additivi tecnologici  
gruppo funzionale: antiossidanti



anche usata per prevenire la combustione spontanea delle farine di pesce durante il loro trasporto sulle navi

ADOPTED: 21 October 2015

PUBLISHED: 20 November 2015

doi:10.2903/j.efsa.2015.4272

# Safety and efficacy of ethoxyquin (6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline) for all animal species

## EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)

This scientific output, published on 20 November 2015, replaces the earlier version published on 18 November 2015<sup>1</sup>

### Ethoxyquin: EFSA safety assessment inconclusive

**EFSA cannot conclude on the safety of ethoxyquin as a feed additive for any target animals, its safety for consumers or the environment. This is due to an overall lack of data to assess the safety of the substance, including its metabolites, and the presence of an impurity (*p*-phenetidine) which is a possible mutagen.**

# Attività dell'LNR-FA anno 2017



Roma, 6-7/12/2017

# Attività dell'LNR-FA anno 2017

- Attività di supporto/aggiornamento/informazione vs IIZZSS
  - Approvvigionamento di standard di coccidiostatici (semduramicina)
  - Chiarimenti in materia di controllo degli additivi per mangimi
  - Organizzazione VII Workshop Laboratori Nazionali di Riferimento per Metalli Pesanti negli Alimenti e nei Mangimi e Additivi nei Mangimi
  - Informazione PTs disponibili (coccidiostatici)
- Partecipazione a PTs (coccidiostatici)
- Partecipazione ai Workshop dell'EURL-FA Authorisation & Control

# Richiesta di parere a EURL

## Quesito Regione Emilia-Romagna

... carry over dei coccidiostatici e normativa di riferimento  
(nota - Reg.UE N. 574/2011).

In particolare la norma dice che "Il livello massimo della sostanza presente nella premiscela è la concentrazione corrispondente a un tenore non superiore al 50 % del livello massimo stabilito per i mangimi se sono rispettate le istruzioni d'uso della premiscela".

Quindi provando a fare un esempio:

1. un mangime per galline ovaiole non può contenere più di 0.4 ppm di decochinato (la scelta è perché il numero è pari) derivato da carry over (stiamo parlando di 40 mg di decochinato in 100 kg di mangime);
2. se la contaminazione fosse tutta dovuta alla premiscela il contenuto max potrebbe essere non 0.4 ma 0.2 (il 50% - 20 mg di decochinato in 100 kg di mangime);
3. poniamo il caso che la nostra premiscela sia da utilizzare all'1% ciò significa che il carry over tollerato è di 20 mg/kg di premix;
4. se invece fosse allo 0.5% la tolleranza sale a 40 mg/kg;
5. se fosse al 2% scenderebbe a 10 mg/kg

## Interpretazione ISS-C.Re.A.A

- si determina la concentrazione di coccidiostatico nella premiscela in analisi, riferita al 12% di umidità ed espressa nella forma prevista dal Regolamento (Qp)
- si calcola la concentrazione che avrebbe nel mangime finito, dividendo per il fattore di diluizione previsto dalle istruzioni allegate alla premiscela (Qm)
- si rileva dal Regolamento il livello massimo previsto nei mangimi indicato nella colonna "contenuto massimo.." (LM)
- si considera non conforme il campione di premiscela se:  $Qm > 0.5 \times LM$

# Richiesta di parere a EURL

## Richiesta all'EURL-FA Control della validità dell'interpretazione

*...the national (Italy) laboratories performing feeds control have recently requested the interpretation of note 2 on pag 21 of Regulation (EU) No 574/2011, to evaluate the compliance of the carry-over levels in the premixes.*

*In particular, the note 2 reports: "The maximum level of the substance in the premixture is the concentration which shall not result in a level of the substance higher than 50 % of the maximum levels established in the feed when the instructions for use of the premixture are followed."*

*Our interpretation was: ...*

### Example:

Analysis of a premixture sample to control the presence of decoquinatone at carry-over level:

Regulation 574/2011 established a maximum level of 0.4 mg/kg

- The contamination of feed due to the premix shall not be higher than 50% of 0.4 mg/kg = 0.2 mg/kg
- The premix it is incorporated in the feeds at 1%

**1<sup>st</sup> case** detected content of decoquinatone in premix  $\leq 20$  mg/kg

in the feed the concentration of decoquinatone will be  $20 \times 0.01$  (dilution factor) mg/kg  $\leq 0.2$  mg/kg.

**The premix is compliant**

**2<sup>st</sup> case** Decoquinatone content in premix  $> 20$  mg/kg

in the feed the concentration of decoquinatone will be  $20 \times 0.01$  (dilution factor) mg/kg  $> 0.2$  mg/kg.

**The premix is not compliant**

*Therefore, we kindly ask you if our interpretation is correct or not.*

# Richiesta di pareri a EURL

**Risposta dell'EURL** ... Based on the information provided I agree with your calculation of the maximum content if decoquinate in premix . However, this limit has been established under Directive 2002/32/EC. Therefore "ANNEX II GENERAL PROVISIONS ON METHODS OF ANALYSIS FOR FEED/ chapter 6 Measurement uncertainty and recovery rate in case of analysis of undesirable substances" of the provisions specified COMMISSION REGULATION (EC) No 152/2009, last amended by Commission Regulation (EU) No 709/2014 applies, when concluding whether a sample is compliant or not.

# Partecipazione a PTs

Partecipazione al PT

Organizzatore EURL-FA Control

EURL-FAC 2017-01

Coccidiostats feed 2017 - "Determinazione di 4 coccidiostatici in mangimi a livello di autorizzazione e di cross-contaminazione"

# Partecipazione a PTs

Partecipazione al PT

Organizzatore KDLL/DUCARES

«Veterinary drugs - High level»

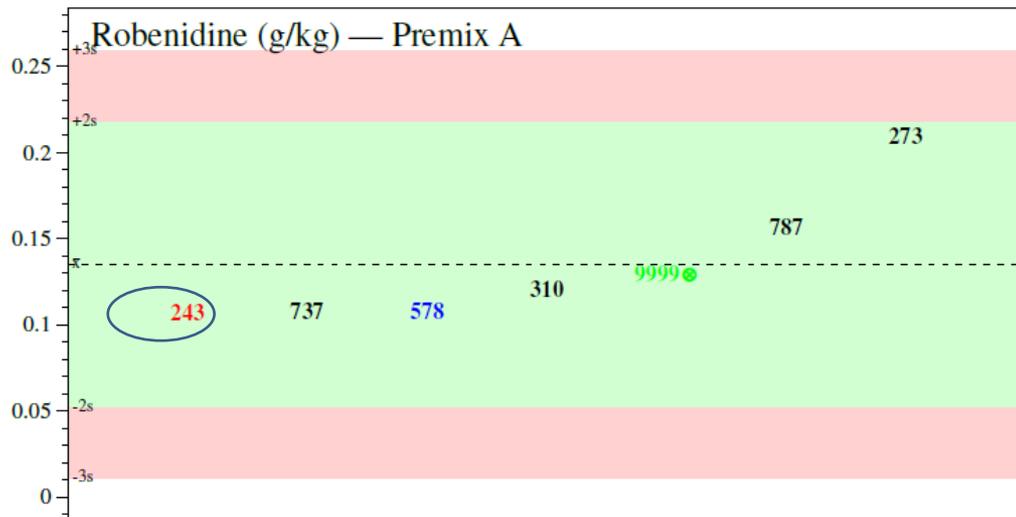
Coccidiostatici a livello di additivazione in

- Premiscela ( $\text{g kg}^{-1}$ )
- Mangime ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

## A. Proficiency Testing programme 2017

Proficiency Testing	Parameters	Total amount samples per year (2 rounds)
Allergens	Allergens (gluten, milk, peanuts / nuts, soy)	2 (1 round)
Amino acids (Bioproteins)	Full amino acid profile	2 (1 round)
Anions	Fluorine, Nitrate, Nitrite, Sulphate, Phosphate, Bromine, Chloride	2 (1 round)
Authenticity and Identification	Specific authenticity and identification parameters	2 (1 round)
Fat Quality *	Fatty acids profile, (un)saturated fatty acids, free fatty acids, moisture, dirt, polymeric triglycerides, iodine value, peroxide value	8
Dioxins and DL PCBs	Dioxins, DL-PCBs, WHO (PCDD/PCDF), WHO-PCDD/F-PCB, WHO (dl-PCB), moisture (only field samples)	4
Honey Quality	Sugars, diastase, pH, conductivity, moisture, ash, HMF and Contaminants (on request)	2 (1 round)
Dyes (forbidden in food/feed)	Forbidden dyes	2 (1 round)
Heavy metals in oil/fat	Cd, Hg, Cr, Pb, Ni, Cu, Zn, As	4
Manure (dung/fertilizer)*	Dry and organic matter, ash, N, P, K, Na, Mg	4 (2 rounds) 6 (3 rounds)
Microbiology*	TVC, Yeast and Moulds, Enteros, Salmonella (detection and serotyping)	8
Microscopic examination	Label control, product assessment, animal proteins	8
Mineral oil in fat	Mineral oil	6
Mineral oil in food and package	Mineral oil: MOSH (Mineral Oil Saturated Hydrocarbon), MOAH (Mineral Oil Aromatic Hydrocarbon)	2 (1 round)
Minerals, trace elements and heavy metals *	Ca, P, Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn, Mn, Cl, Cd, Co, Pb, Se, Hg, As, Cr, I, Mo, Ni, Sn, phytate, phytase	4
Mycotoxin AM	Aflatoxin M1	4
Mycotoxins	Aflatoxin B1, aflatoxin B2, aflatoxin G1, aflatoxin G2, total aflatoxins ochratoxin A, DON, ZEA, T-2, HT-2, Fumonisin B1, Fumonisin B2	4
Nutrition declaration (Big eight analysis)	Energy (Calorific )value, protein, carbohydrates, total sugars, total fat, saturated fat, fiber, sodium	2 (1 round)
Organochlorine pesticides and PCB's *	Organochlorine pesticides and PCB's	4
Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)	Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), total PAHs/BAPEQ	4
Proximate analysis * (Weende analysis)	Moisture, protein, fat, ash, ash HCl-insoluble, sugars, starch, NDF, ADF, pepsin protein solubility, pH , lactose	4 (2 rounds) 6 (3 rounds)
Proximate analysis * (Weende analysis) + NIR analysis	Moisture, protein, fat, ash, ash HCl-insoluble, sugars, starch, NDF, ADF, pepsin protein solubility, pH , lactose NIR: Moisture, protein, fat, ash, crude fibre, sugars/lactose, starch	4 (2 rounds) 6 (3 rounds)
Veterinary drugs- HA High Level + Additive Level	Monensin, nicarbazin, robenidin, salinomycin, narasin (two levels)	8
Veterinary drugs- LL Low level (Forbidden and allowed )	Amprolium, Carbadox, Olaquinox, Metronidazole, Dimetridazole Furazolidone, Chloramphenicol (CAP), Ronidazol, Monensin, nicarbazin, robenidin, salinomycin	4
Vitamins	Vitamin A, B1, B2, D3, C, E and K3	2 (1 round)
3-MCPD+ derivates in oil/fat	3-MCPD + derivates	2 (1 round)

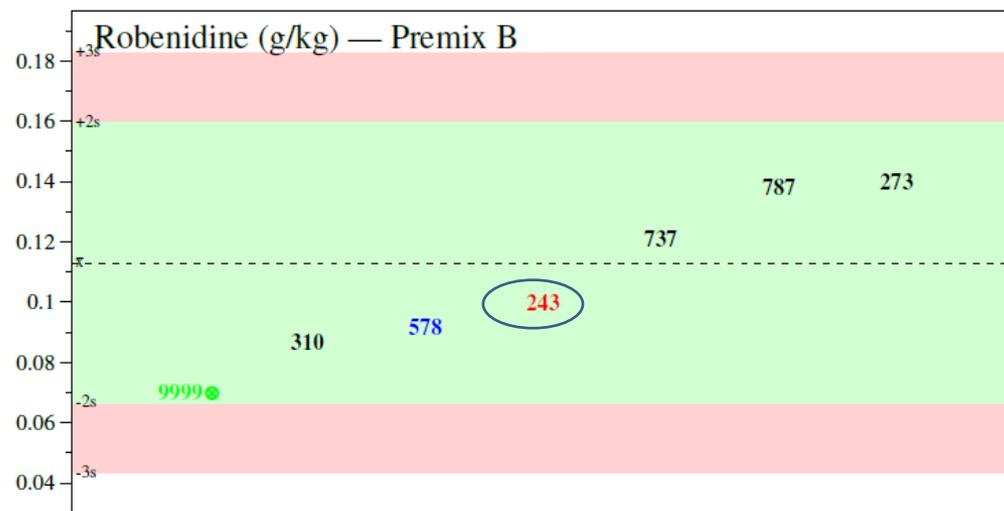
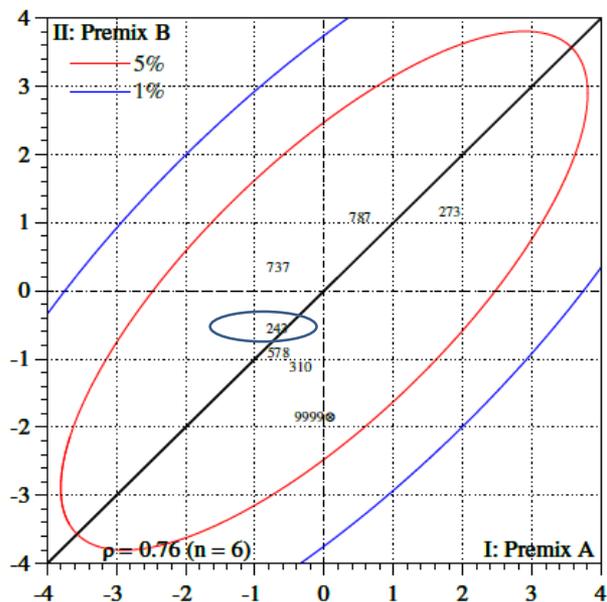




## 4.2 Robenidine

Results:

lab nr	I g/kg	Z <sub>I</sub>	II g/kg	Z <sub>II</sub>
243	0.107	-0.7	0.100	-0.6
273	0.210	1.8	0.140	1.2
310	0.121	-0.3	0.087	-1.1
578	0.108	-0.7	0.092	-0.9
737	0.108	-0.7	0.121	0.3
787	0.157	0.5	0.138	1.1
9999	0.130	-0.1	0.070	-1.8





Roma, 6-7/12/2017

