Determinazione dei coccidiostatici a livello di additivazione

Problematiche e nuove disposizioni del PNAA

Cinzia Civitareale & Maurizio Fiori

LNR per gli additivi nei mangimi

Determinazione del titolo di additivi COCCIDIOSTATICI: Argomenti trattati

- PNAA - novità 2021-2023
- Indagine dell'EURL-FA Control sull'uso di metodi ufficiali/normati per la determinazione di additivi coccidiostatici presso i LNRs/OCLs
- metodi in uso presso gli II.ZZ.SS
- 2 Casi - problemi di determinazione del titolo:

  - Nicarbazina;

  - Validazione metodo IRMM/JRC (EN 17299:2019) - Wageningen University & Research
- Working program 2021 EURL-FA Control

Discussione: esperienze problemi di quantificazione dei Coccidiostatici a livelli di additivazione; Cocc. ionofori e non ionofori c'è necessità di distinguere la ricerca nel PNAA (si usa lo stesso metodo o metodi differenti?); quali metodi ufficiali/normati sono in uso presso gli IIZZSS; in caso di metodi diversi da quelli ufficiali/normati, quali le ricadute nella gestione della controversia alla luce del REGOLAMENTO (UE) 2017/625.

Piano Nazionale di controllo ufficiale sull' Alimentazione degli Animali

Novità PNAA triennio 2021 – 2023

NOVITA' – attività campionamento

- ✓ Completamento processo di Informatizzazione (a partire dal 1 gennaio 2021 la rendicontazione dell'attività di campionamento dovrà essere effettuata esclusivamente attraverso il sistema **SINVSA**) ➡ II.ZZ.SS. inserimento esiti analitici
- ✓ Modifica del Capitolo 1 "Profilassi BSE": modifica strategia di campionamento e aggiornamento numerosità campionaria
- ✓ Modifica del Capitolo 2 "Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi": riorganizzazione attività di controllo e aggiornamento numerosità campionaria
- ✓ Modifica Capitolo 5 "Contaminanti e Radionuclidi": migrazione dell'attività di ricerca di radionuclidi all'attività di monitoraggio e modifica ed aggiornamento numerosità campionaria

NOVITA'
Capitolo 2 - Piano di Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi

Permane la distinzione dell'attività di campionamento in

- ✓ MONITORAGGIO (screening Reg. 2017/625): additivi nutrizionali, composti di oligoelementi
- ✓ SORVEGLIANZA (screening mirato Reg. 2017/625): additivi coccidiostatici e principi farmacologicamente attivi

Numerosità campionaria:

- ✓ Invariata per il monitoraggio
- ✓ Riduzione di 250 campioni per la sorveglianza

Viene eliminata la ricerca di tetracicline in PAT (nessuna non conformità in tre anni)

NOVITA'
Capitolo 2 - Piano di Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi

Monitoraggio

- ✓ Nessuna modifica sostanziale
- ✓ Ricerca di: Ferro, Manganese, Rame, Selenio, Zinco e Cobalto
- ✓ Ridistribuzione dei campioni in base al patrimonio zootecnico aggiornato (numero capi in BDN aggiornato al 30/06/2020)

NOVITA'
Capitolo 2 - Piano di Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi

Sorveglianza

modifiche sostanziali - osservazioni pervenute dalle Regioni/P.A. e dai laboratori ufficiali:

- Difficoltà di reperire i campioni per il carry over
- Numerosità eccessiva di campioni
- Opportunità di tenere conto dei dati REV
- Opportunità di aggiungere nuove sostanze alla ricerca
- Richiesta di ricerche multiresiduo (soprattutto per coccidiostatici)
- Svicolare matrice/specie animale/sostanza

LE QUATTRO FINALITA' DEL CAPITOLO 2

Finalità 1

Verifica del titolo

650 campioni

Finalità 2
Verifica dell'utilizzo di sostanze vietate

650 campioni

Finalità 3
verifica utilizzo non dichiarato/non prescritto/ fraudolento

650 campioni

Finalità 4

Verifica del Carry-over

850 campioni

Da effettuare:

Titolo: solo su mangime medicato o con coccidiostici, solo sostanze autorizzate come coccidiostatico o premiscela medicata

Uso illecito: su mangime/acqua, solo sostanze vietate

Uso improprio: su mangime/acqua, tutte le sostanze utilizzate in allevamento per uso orale in acqua o mangime

Carry over: solo mangime, le stesse sostanze della finalità 1 a livello di carry over

NOVITA'
Capitolo 2 - Piano di Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi

Tabella delle sostanze da ricercare per ognuna delle 4 finalità

Inserimento nuove classi/molecole?

Censimento dei metodi e verifica della disponibilità di metodi presso la rete IIZZSS per la copertura delle quattro finalità e l'inserimento di nuove classi/molecole

NOVITA'
Capitolo 2 - Piano di Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi

Tabella 2-2: Tabella riepilogativa dei campionamenti previsti dal presente programma per le 4 diverse finalità

FINALITÁ 1	LUOGO DI CAMPIONAMENTO	MATRICE DA CAMPIONARE	ANALISI RICHIESTA	NON CONFORMITÀ
Verifica del titolo	Tutti gli OSM	Mangime che riporta in etichettatura la presenza di sostanze farmacologicamente attive e/o coccidiostatici	La/e sostanza/e (coccidiostatico o principio attivo farmacologico) dichiarata/e in etichettatura (non è prevista la ricerca simultanea delle altre sostanze appartenenti alla stessa classe) **Prima colonna della tabella 4-2**	Superamento delle tolleranze previste dal reg.(CE) 767/09 allegato IV per i coccidiostatici Superamento delle tolleranze previste dall'art.14, comma 4 del DM 16/11/93 per i farmaci veterinari Dal 28 gennaio 2022 superamento dei limiti stabiliti per le sostanze in allegato IV del Reg (UE) 4/19

NOVITA'
Capitolo 2 - Piano di Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi

Tabella 2-2: Tabella riepilogativa dei campionamenti previsti dal presente programma per le 4 diverse finalità

FINALITÀ 2	LUOGO DI CAMPIONAMENTO	MATRICE DA CAMPIONARE	ANALISI RICHIESTA	NON CONFORMITÀ
Verifica dell'utilizzo di sostanze vietate	Allevamento, (compreso ove necessario il prelievo in mangiatoia).	Mangime o acqua di abbeverata	Sostanza/classe di sostanze vietate **Seconda colonna della tabella 4-2**	Presenza analitica
FINALITÀ 3	**LUOGO DI CAMPIONAMENTO**	**MATRICE DA CAMPIONARE**	**ANALISI RICHIESTA**	**NON CONFORMITÀ**
Verifica dell'utilizzo non dichiarato, non prescritto o fraudolento	Allevamento, (compreso ove necessario il prelievo in mangiatoia).	Mangime o acqua di abbeverata	Sostanze non autorizzate per la specie o categoria/fascia di età Principi farmacologicamente attivi non prescritti dal veterinario Sostanze per le quali siano in corso i tempi di sospensione Sostanze che possono essere state usate fraudolentemente in base all'analisi dei rischi. **Terza colonna della tabella 4-2** (ove il sospetto ricada su sostanza che fa parte di una classe, richiedere la ricerca di tutta la classe)	Presenza analitica

NOVITA'
Capitolo 2 - Piano di Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi

Tabella 2-2: Tabella riepilogativa dei campionamenti previsti dal presente programma per le 4 diverse finalità

FINALITÀ 4	LUOGO DI CAMPIONAMENTO	MATRICE DA CAMPIONARE	ANALISI RICHIESTA	NON CONFORMITÀ
Verifica del carry over/contaminazione crociata	OSM (allevamenti e mangimifici) che producono mangimi medicati/con coccidiostatici Distributori Trasportatori	PFA: Mangimi non target Coccidiostatici: mangimi destinati a specie non target	Sostanze/classi di sostanze autorizzate ma NON dichiarate in etichettatura. **Produttori:** Sostanze/classi di sostanze utilizzate dall'OSM (privilegiare quelle utilizzate nelle produzioni precedenti) **Trasportatori:** classi di sostanze contenute nei mangimi trasportati precedentemente **Distributori o in mancanza di dati:** Classi di sostanze frequentemente utilizzate in Italia Classi di sostanze che hanno dato NC nel triennio precedente	Superamento dei valori stabiliti da: • Direttiva 2002/32 per gli additivi • 0,5 ppm penicilline • 1ppm altre sostanze farmacologicamente attive Dal 28 gennaio 2022 superamento dei limiti delle sostanze farmacologicamente attive stabiliti ai sensi del Reg (UE) 4/19

NOVITA'

Capitolo 2 - Piano di Controllo degli Additivi e dei Principi Farmacologicamente Attivi

Tabella 4-2: sostanze da ricercare per finalità

SOSTANZE DA RICERCARE PER LE FINALITÀ 1	SOSTANZE VIETATE DA RICERCARE PER LA FINALITÀ 2	SOSTANZE DA RICERCARE PER LA FINALITÀ 3	SOSTANZE DA RICERCARE PER LA FINALITÀ 4

COCCIDIOSTATICI IONOFORI

COCCIDIOSTATICI NON IONOFORI

COCCIDIOSTATICI

TRATTAMENTO ANALITICO DIVERSO?

Indagine dell'EURL-FA *Control* sull'uso di metodi ufficiali/normati per la determinazione di additivi coccidiostatici presso i LNRs/OCLs

COCCIDIOSTATICI METODI UFFICIALI/NORMATI: Sondaggio EURL-FA Control

- La tabella riassume i risultati di un'indagine dell'EURL-FA Control volta a ottenere una panoramica dell'uso dei metodi ufficiali per la determinazione dei coccidiostatici nei mangimi da parte degli NRLs e degli OCLs dell'UE.

SURVEY EURL-FA Control - DETERMINAZIONE del TITOLO

Additivo	Metodo ufficiale/riferimento	N. LNRs-OCLs (tot 19) /EURL (Y/N)
Diclazuril	Regulation (EC) No 152/2009, Annex IV/F	7/Y
Alofuginone bromidrato	Regulation (EC) No 152/2009, Annex IV/D	1/N
Lasalocid A sodio	Regulation (EC) No 152/2009, Annex IV/G	6/N
Robenidina cloridrato	Regulation (EC) No 152/2009, Annex IV/E	12/N
Monensin sodio	EN ISO 14183: Determination of monensin, narasin and salinomycin contents - liquid chromatographic method using post-column derivatisation	11/Y
Narasin		
Salinomicina sodio		
Nicarbazina	EN 15782: Determination of nicarbazin - High-performance liquid chromatographic method	9/N
Decoquinate	EN 16162: Determination of decoquinate by HPLC with fluorescence detection	4/N
Maduramicina ammonio alfa	EN 15781: Determination of maduramicin-ammonium by reversed-phase HPLC using post-column derivatisation	5/N
Semduramicina sodio	EN 16158: Determination of semduramicin content - Liquid chromatographic method using a "tree" analytical approach	3/N

cross-contamination	EN 17299: Screening and determination of authorized coccidiostats at additive and 1 % and 3 % cross-contamination level, and of non-registered coccidiostats and of one antibiotic at sub-additive levels, in compound feed with High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry detection (LC-MS/MS)	10/Y

Disponibilità di metodi ufficiali/normati per la determinazione di additivi coccidiostatici a livello di additivazione (e carry-over) presso gli II.ZZ.SS.

METODI COCCIDIOSTATICI - II.ZZ.SS.

La tabella indica (tra parentesi) i numeri dei lab. IIZZSS che dispongono di metodi per il controllo di coccidiostatici (screening e/o conferma)

- estrapolazione dal censimento dei metodi analitici disponibili presso la rete degli II.ZZ.SS. per la predisposizione del PNAA 2021-2023;

- nessuna informazione riguardo la tipologia di metodo usato (necessità di indagine!?); in molti casi il LOQ è molto basso – metodo idoneo anche per la determinazione del titolo?

IIZZSS - DETERMINAZIONE del TITOLO

Additivo	Metodo ufficiale/ riferimento - ALTRO?	IZS N. lab. con metodo disponibile S/C (dati ricavati dal censimento 2020)
Diclazuril	?	6 - titolo?
Alofuginone bromidrato	?	4 ?
Lasalocid A sodio	?	7 ?
Robenidina cloridrato	?	8 ?
Monensin sodio	?	7 ?
Narasin		7 ?
Salinomicina sodio		7 ?
Nicarbazina	?	9 ?
Decoquinate	?	6 ?
Maduramicina ammonio alfa	?	6 ?
Semduramicina sodio	?	5 ?

cross-contamination	?	4-9 (livello di copertura per molecola riferita allo screening)

Problemi di determinazione del titolo di additivi coccidiostatici
Caso 1

Nicarbazina

NICRBAZINA – cosa misuriamo?

- EURL-FA Control riporta:

due casi da un produttore di mangimi: controllo di campioni di mangime da parte di un LNR per i livelli di Maxiban 160 (Narasin e Nicarbazina)

- ✓ Narasina – riscontro di concentrazione conforme
- ✓ Nicarbazina – riscontro di concentrazioni inferiori
- ✓ La compagnia produttrice dell'additivo prende contatto con l'EURL che valuta il caso

La compagnia assicura che la formulazione della premiscela è corretta – prova ne sia la concentrazione conforme della narasina e che i due additivi nel lotto sono in un rapporto 1:1 con un giusto grado di omogeneità.

NICRBAZINA – cosa misuriamo?

- L'EURL contatta il LNR

I metodi usati per le analisi sono:

- ✓ Narasina: EN 14183
- ✓ Nicrbazina: EN 15782 (modificato – passaggio aggiuntivo di clean-up per raggiungere livelli di nicarbazina tra 0,5 e 10 mg/kg)

Il LNR BE riscontra livelli simili per entrambi i composti ma una contro analisi da parte di un altro lab richiesta dalla ditta produttrice della premiscela riscontra livelli di nicarbazina più bassi.

NICRBAZINA – cosa misuriamo?

- ✓ L'EURL fornisce raccomandazioni/consigli alla Ditta per approntare una metodologia per la verifica di campioni di mangime contenente Maxiban 160

Eseguire un limitato numero di esperimenti utilizzando il metodo EN 15782 e il metodo sviluppato in-house dalla ditta:

- su 10 repliche di campioni di mangime contenente MAXIBAN 160 per ciascun metodo; eseguire test statistici per determinare se i risultati dei due gruppi sono significativamente differenti
- su 10 differenti mangimi contenenti Maxiban 160, eseguendo due sottocampioni da processare in parallelo con i due metodi; eseguire test statistici per determinare se i risultati dei due sottogruppi sono significativamente differenti

NICRBAZINA – cosa misuriamo?

Problema di calcolo:

- ✓ Nicarbazina è un complesso: 4,4'-dinitrocarbanilde (DNC) e 2-idrossi-4,6 dimetilpirimidina (HDP)
- ✓ Autorizzazione additivo: Nicarbazina
- ✓ Analisi strumentale: DNC

Tenere in considerazione due fattori:

- ✓ M_{NIC}: 426,38 g mol^{-1}; M_{DNC}: 302,25 g mol^{-1}; (M_{HDP}: 124,14 g mol^{-1})

39 mg/kg di nicarbazina → 27,646 mg/kg DNC

- ✓ Standard NIC - grado di purezza; CoA: purezza NIC 98,7%; DNC area: 92,23% da cui si ottiene una purezza di 91,03%

IN CONCLUSIONE: si devono eseguire tutte le correzioni

Problemi di determinazione di additivi coccidiostatici a livello di additivazione

Caso 2

Metodo EN 17299:2019

WORKSHOP 24-25 Novembre 2020
joint webinar

EURL-FA Workshops (20th Authorisation & 9th Control)

1st day: 24 November 2020

09:30-10:00	**Webinar Workshop** Virtual registration – Practical info on technical issues
10:00-10:30	**Opening of the workshop: Welcoming & Introduction** Hendrik Emons & Christoph von Holst (JRC)
10:30-11:00	**EURL-FA activities 2020 (Control)** Ursula Vincent (JRC)
11:00-11:30	*Coffee / Tea break*
11:30-12:00	**Research on issues regarding coccidiostats analysis at additive levels** Erik de Lange (NRL, The Netherlands)
12:00-12:30	**Identification of feed additives using DART** Christoph von Holst (JRC)
12:30-14:00	*Lunch*
14:00-14:30	**Register of Feed Additives – A guided tour** Almudena Rodríguez Sánchez-Beato (DG SANTE)
14-30-15:00	**Vitamin A - is everything different now?** Irmengard Stmad (NRL, Austria)
15:00-15:30	*Tea / Coffee break*
15:30-16:00	**Ethoxyquin – an analytically challenging former feed additive** Robin Ørnsrud (NRL, Norway)
16:00-16:30	**Review of Regulation (EU) 152/2009 – Current status** Frans Verstraete (DG SANTE)

Webinar, 24-25 November 2020

2nd day: 25 November 2020

10:00-10:30	**EURL-FA activities 2020 (Authorisation)** Zigmas Ezerskis (JRC)
10:30-11:00	**The validation of a method of analysing ethoxyquin residues in animal feed using QuEChERS and GC-MS/MS and the results obtained in our official control samples** Pilar Rodríguez Martínez (NRL, Spain)
11:00-11:30	*Tea / Coffee break*
11:30-12:30	**Presentation & discussion** **Results from the ILC on urea (MVS UREA-19/01)** Ursula Vincent (JRC) **Results from the PT on urea** Carlos Gonçalves (JRC)
12:30-14:00	*Lunch*
14:00-14:30	**FEEDAP panel: how is working?** Angelica Amaduzzi (EFSA)
14:30-15:00	**Update from EFSA** Matteo Innocenti (EFSA)
15:00-15:30	*Coffee / Tea break*
15:30-16:00	**Innovation in the feed additives Regulation** Marta Ponghellini (DG SANTE)
16:00-16:30	**Identification of some probiotics with pulsed field gel electrophoresis (PFGE): Results of a validation study** Atte von Wright (Biosafe Biological Safety Solutions Ltd)
16:30 – 16:45	**Control activities of the EURL-FA activities in 2021** Ursula Vincent (JRC)
16:50	**End of the Webinar**

CASO 2.

METODO EN 17299:2019 – criticità

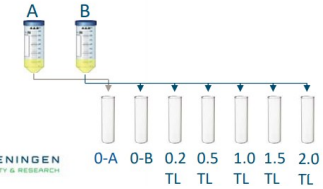
Wageningen Food Safety Research (WFSR)- problemi determinare i coccidiostatici a livello di additivazione - 2018 sviluppo e validazione di un metodo basato su: EURL-FA: Validation of a LC-MS/MS method, Final Report on the Collaborative Study, JRC108045) IRMM/JRC (EN 17299:2019)

valori di recupero troppo elevati (Commission Regulation (EC) no. 657/2002) per tutti gli ionofori e nicarbazina

Background

2018 Validation of coccidiostats on additive level based on IRMM/JRC

- Weigh in 5g of grinded sample in duplicate (A+B)
- Add 40 mL extraction solvent (ACN:MeOH:H2O; 80:10:10; V:V:V)
- Shake manually and place in an ultrasonic bath for 30 minutes
- Shake using a head-over-head system during 60 minutes
- Centrifuge 10 minutes at 1850g
- Pipette 200 µL extract into a 20 mL volumetric flask (dilute 100x)
- Add extraction solvent to the mark



Compound	1*TL (mg/kg)
halofuginon	3
robenidine	70
diclazuril	1
nicarbazin (DNC)	50
decoquinaat	40
semduramicin	25
monensin	125
salinomycin	70
narasin	70
maduramicin	5
lasalocid	125
flubendazol	30
fenbendazol	30
ivermectin	25

Compound	Criteria	Trueness (%)	RSD_{RL} (%)
Halofuginone-HBr	70 - 110	89	6
Robenidine-HCl	80 - 110	92	10
Diclazuril	50 - 120	92	10
Nicarbazin	80 - 110	132	5
Decoquinaat	80 - 110	102	8
Semduramicine-Na	80 - 110	116	12
Monensin-Na	80 - 110	146	23
Salinomycine-Na	80 - 110	135	11
Narasin	80 - 110	139	17
Maduramicine-ammonium	70 - 110	167	27
Lasalocid A-Na	80 - 110	145	14
Flubendazole	80 - 110	95	2
Fenbendazole	80 - 110	100	9
Ivermectine	80 - 110	92	25

Da *Erik de Lange e Robin Wegh*: presentazione Workshop EURL-FA Control, 24 Novembre 2020

CASO 2.

I risultati ottenuti in LC-MS/MS mostravano: 1) importanti variazioni nelle concentrazioni tra giorni diversi compresi gli standards 2) tempi di ritenzione instabili per gli ionofori 3) sovraccarico in colonna 4) un'eluizione tardiva degli ionofori al di fuori del gradiente.

Ottimizzazione delle condizioni cromatografiche per questi composti.

Parameter	Initial method	Ionophore method
Mobile phase A	0.016%FA + 2 mM NH_4HCO_2 in H_2O	0.1% FA in H_2O
Mobile phase B	0.016%FA + 2 mM NH_4HCO_2 in MeOH	0.1% FA in MeOH
Column	Waters BEH C18, 100mm*2.1mm*1.7 µm	Waters Coreshell C18+ 100mm*2.1mm*1.6 µm
Column T	40 °C	50 °C
Flow rate	0.4 ml/min	0.4 ml/min

The same extract:

	Maduramicin	Semduramicin	Narasin	Salinomycin	Monensin	Lasalocid
Trueness% initial method	118	142	175	159	167	169
Trueness% New method	98	94	102	102	93	91

Da *Erik de Lange e Robin Wegh*: presentazione Workshop EURL-FA Control, 24 Novembre 2020

I problemi continuano…

nella fase successiva di validazione per la quantificazione mediante MLSA:

variazioni nelle concentrazioni trovate e recuperi ancora una volta troppo elevati

ESPERIMENTO (Narasin):

mangime neg. + 70 ppm	solvente + 70 ppm	mangime reale + 100 ppm

MLSA: **1)** narasin **2)** narasin + nigericin (S.I.) **3)** ionofori + nigericina (S.I.) **4)** tutti i coccidiostatici + tutti S.I.

RISULTATI: le concentrazioni di narasin risultano superiori al teorico quando si aggiungono più coccidiostatici al campione per la sequenza MLSA.

Questo effetto non è stato osservato per il campione reale???

CONCLUSIONE: l'ottimizzazione delle condizioni LC-MS/MS è importante ma serve un ulteriore lavoro per sviluppare un metodo per la corretta quantificazione degli ionofori livello di additivazione

Segue la discussione…

The representative from the Portuguese NRL shared their experience: for more than 10 years they have used the same narasin standard with the post-column derivatization method and a DAD detector without problems; lately, with the US Pharmacopoeia narasin standard they started to encounter problems; in particular the signal responses were 20% higher. Questioning the manufacturer did not help since according to him the certified content can only be guaranteed if their own method of analysis is used. Using different lots of Sigma Aldrich® narasin standards led also to different results.

A request was raised by the Portuguese NRL to the EURL-FAC to obtain a different lot of narasin standard and reference samples in order to check further the fitness for purpose of the method they use. During the webinar, another request was made to the EURL-FAC to organise a small study using different standards of narasin to get insight into the issue.

The representative from the Slovenian NRL also reported issues when analysing coccidiostats but at cross-contamination level and for the ionophores. They noticed that the situation worsened in the presence of more coccidiostats in the same sample. A partial solution to overcome this problem was to perform the standard addition of one analyte at a time.

AZIONI EURL-FA

l'EURL ha considerato importante effettuare una più approfondita discussione sull'analisi dei coccidiostatici quando si applicano metodi mono e multi-analita.

EUR-FA working program 2021: tra l'altro…

DG SANTE MANDATE-Regulation (EU) 2017/625

- ✓ PT for the determination of vitamin D3 at authorised level in feedingstuffs

  Delayed from 2020; Foreseen during the 1st quarter of 2021 (already announced by email)
- ✓ Analytical method development for the determination of p-phenetidine in feedingstuffs, single-lab validation and the organisation of a corresponding interlaboratory study - Fish meal
- ✓ Continue the project on the development of methods for the identification (or determination) of 24 antimicrobial active substances in non-target feed at cross-contamination level
- ✓ EN standard for the determination of carotenoids in feedingstuffs (deadline for the enquiry launched for prEN 17550: 10.12.2020).

Discussione

- esperienze problemi di quantificazione degli additivi coccidiostatici a livelli di additivazione;
- per ionofori e non ionofori c'è necessità di distinguere la ricerca nel PNAA (si usa lo stesso metodo o metodi differenti?)
- quali metodi ufficiali/normati sono in uso presso gli IIZZSS;
- In caso di metodi diversi da quelli ufficiali/normati, quali le ricadute nella gestione della controversia alla luce del REGOLAMENTO (UE) 2017/625.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Contatti

E-mail

cinzia.civitareale@iss.it

maurizio.fiori@iss.it

E-mail

lnradditivim@iss.it

WEB

https://www.iss.it/lnr-am-chi-siamo