



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°01/2026 del LNR per i Virus di origine Alimentare:
Espressione del risultato nella ISO 15216-2:2019**

Rev. 0 del 10.07.2026

Premessa

In base alla ISO 15216-2:2019 §10, i risultati positivi per i virus target nelle analisi effettuate sulle superfici devono essere espressi come “genoma virale rilevato in x cm²”, laddove la superficie approssimativa dell’area può essere registrata, o come “genoma virale rilevato” laddove la superficie approssimativa dell’area non può essere registrata. Per gli altri tipi di campione, i risultati positivi devono essere espressi come “genoma virale rilevato in x ml” o “genoma virale rilevato in x g”, dove x è il quantitativo di **campione testato**. Se il virus target non è rilevato, i risultati per le superfici devono essere espressi come “genoma virale non rilevato in x cm²”, laddove la superficie approssimativa dell’area può essere registrata, o come “genoma virale non rilevato” laddove la superficie approssimativa dell’area non può essere registrata. Per gli altri tipi di campione, i risultati negativi devono essere espressi come “genoma virale non rilevato in x ml” o “genoma virale non rilevato in x g”.

L’interpretazione del termine “campione testato” (*sample tested*) nell’ambito della ISO 15216-2:2019 non è tuttavia univoco, non corrispondendo ad alcuna definizione all’interno della norma ISO 15216-2:2019 o nelle norme di carattere generale relative alle fasi di preparazione e prelievo del campione ai fini dell’analisi (e.g. ISO 6887-1:2017/Amd.1:2024).

Pertanto, ai fini di una corretta ed armonizzata interpretazione della norma nell’ambito delle attività di controllo ufficiale, il LNR per i Virus di origine alimentare ha posto un quesito specifico all’EURL for Foodborne Viruses (Livsmedelsverket - Swedish Food Agency, Svezia) per chiarire le corrette modalità di espressione del risultato della ISO 15216-2:2019. Le indicazioni fornite dall’EURL sono state acquisite con protocollo AOO-ISS 24/06/2026 – 0027426 Class: DSAV 01.10 e sono riportate nel presente documento in forma condensata e rielaborata per migliorarne la chiarezza.

Quesito posto all’EURL in merito all’espressione del risultato della ISO 15216-2

L’interpretazione del termine “*sample tested*” non è completamente univoco poiché la procedura della ISO 15216-2:2019 include:

- i. un quantitativo di campione prelevato per l’analisi (corrispondente alla “*test portion*” della ISO 6887-1), equivalente a 2 g di omogenato di epatopancreas per i molluschi, 25 g per i frutti di bosco e i vegetali, a un volume variabile fino a 2 l per l’acqua in bottiglia, e ad una superficie di area variabile per i tamponi;
- ii. un quantitativo di acido nucleico estratto dal campione sul quale viene effettuata l’analisi mediante real-time PCR, corrispondente a 1/10 del quantitativo totale di acido nucleico estratto dal campione.



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

Inoltre, nei campioni che mostrano inibizione della reazione di PCR, i risultati possono essere espressi usando la diluizione 1:10 dell'acido nucleico del campione e questo riduce ulteriormente la frazione effettiva di campione sottoposta ad analisi. Infine, i metodi per la ricerca dei virus nelle matrici alimentari si configurano come metodi per la ricerca diretta del target analitico in matrice, risultando pertanto strutturalmente diversi rispetto agli altri metodi molecolari destinati alla rilevazione dei patogeni batterici, nei quali l'uso di fasi di prearricchimento del patogeno assicura la rappresentatività di ciascuna aliquota del terreno di prearricchimento rispetto alla porzione test.

Tale differenze non costituiscono un problema nel caso dell'espressione di un risultato positivo, poiché la rilevazione del target analitico nella frazione analizzata implica la presenza del target analitico nella porzione test, ma può rappresentare un problema nell'espressione dei risultati di campioni in cui il target analitico non è stato rilevato, poiché l'attribuzione dell'esito analitico della frazione analizzata all'intera porzione test può determinare una sovrastima della sua rappresentatività.

Alla luce di quanto espresso, e considerando che la modalità di espressione dei risultati è in larga parte di carattere convenzionale e che diversi approcci sono accettabili purché largamente condivisi e armonizzati, si chiede all'EURL di esprimere il proprio parere rispetto ai seguenti quesiti:

- 1) Il requisito espresso dalla ISO 15216-2:2019 relativamente all'espressione del risultato come "genoma virale rilevato / non rilevato in x g / ml / cm²" deve essere interpretato come segue?
 - "genoma virale rilevato / non rilevato in 2 g" per i campioni di molluschi bivalvi;
 - "genoma virale rilevato / non rilevato in 25 g" per i campioni di frutti di bosco e vegetali;
 - "genoma virale rilevato / non rilevato in x [con x = volume filtrato in fase di concentrazione del virus] ml" per i campioni di acqua;
 - "genoma virale rilevato / non rilevato in x [con x = area campionata] cm²" per i tamponi.
- 2) Nel caso di espressione del risultato su campioni inibiti (i.e. attraverso l'analisi della diluizione 1:10 degli acidi nucleici del campione) l'espressione del risultato deve essere il medesimo riportato al punto 1 o il quantitativo testato deve essere ridotto nella proporzione di 1/10 dell'originale (e.g. 0.2 g per i molluschi, 2.5 g per i frutti di bosco e i vegetali, etc.?)

Risposte dell'EURL in merito all'espressione del risultato della ISO 15216-2

- 1) In merito al quesito n°1, la posizione espressa dall'EURL è la seguente: assumendo la conformità dei controlli richiesti dalla ISO 15216-2:2019 per inibizione e recupero, i risultati analitici dovrebbero essere espressi come indicato nel quesito 1. Nell'interpretazione di tali risultati, è opportuno tenere conto anche del LOD analitico.
- 2) In merito al quesito n°2, la posizione espressa dall'EURL è la seguente: nel caso di espressione del risultato su campioni inibiti (i.e. testati nella loro diluizione 1:10), l'espressione del risultato rimane la medesima del punto 1 ed è opportuno riportare le informazioni relative all'efficienza di estrazione e all'inibizione. Inoltre, in presenza di campioni inibiti, l'espressione del LOD deve tenere conto di tale aspetto, e il valore del LOD deve essere moltiplicato per 10.



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

Conclusioni ed indicazioni finali in merito all'espressione del risultato della ISO 15216-2

In base ai chiarimenti forniti e alle indicazioni formulate dell'EURL for Foodborne Viruses, assumendo la conformità dei controlli per la verifica dell'inibizione e del recupero richiesti dalla norma, i risultati delle determinazioni effettuate mediante ISO 15216-2:2019 devono essere espresse come segue:

- "genoma virale rilevato / non rilevato in 2 g" per i campioni di molluschi bivalvi;
- "genoma virale rilevato / non rilevato in 25 g" per i campioni di frutti di bosco e vegetali;
- "genoma virale rilevato / non rilevato in x [con x = volume filtrato in fase di concentrazione del virus] ml" per i campioni di acqua;
- "genoma virale rilevato / non rilevato in x [con x = area campionata] cm²" per i tamponi laddove la superficie approssimativa dell'area può essere registrata, o come "genoma virale non rilevato" laddove la superficie approssimativa dell'area non può essere registrata.

Tale espressione dei risultati deve essere applicata indipendentemente dal fatto che gli esiti analitici siano stati acquisiti utilizzando gli acidi nucleici del campione non diluiti o la loro diluizione 1:10.

Inoltre, in accordo con quanto previsto dalla ISO 15216-2:2019, l'espressione del risultato analitico deve essere accompagnata dall'indicazione dell'efficienza di estrazione ottenuta nell'analisi.

Infine, per consentire una più accurata interpretazione dei risultati analitici, in aggiunta ai parametri richiesti dalla ISO 15216-2:2019, l'EURL consiglia di includere nei rapporti di prova l'indicazione dell'eventuale inibizione riscontrata nel campione di prova e l'espressione del LOD analitico.

Roma, 10.07.2026

Il Responsabile

dott.ssa Elisabetta Suffredini