



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Criticità e risultati ottenuti nel primo anno di applicazione della ISO 15216-2:2013 sul controllo del Norovirus e dell'epatite A nei molluschi bivalve e vegetali

Sarah Lovari

D.O. Controllo degli Alimenti

Laboratorio di Biotecnologie applicate alla sicurezza alimentare

Roma 6-7 ottobre 2015



Ricerca di Norovirus Genogruppo GI e GII

2014		PIF	UVAC	Autocontrollo
Campioni analizzati	71	55	13	3

		PIF	UVAC	Autocontrollo
VONGOLE	38	35		3
MITILI CONGELATI	7		7	
MOLLUSCHI BIVALVI PRECOTTI CONGELATI	20	20		
OSTRICHE	6		6	



Ricerca di Norovirus Genogruppo GI e GII

ESITI 2014			
Non rilevata presenza	46		
Rilevata presenza: GI e GII	3	Vongole (PIF)	
Rilevata presenza GII	9	8 Vongole (PIF)	1 mitili congelati (PIF)
Risultati inconclusivi	2	vongole (autocontrollo)	ostriche (UVAC)
Campioni non eseguibili	11	10 vongole (PIF)	Ostriche (UVAC)

**2014: 17% positività per Norovirus
3% inconclusivi**



2015 Primo semestre	PIF		UVAC	AUTOCONTROLLO	PIANO DI MONITORAGGIO	CONTROLLO UFFICIALE
<i>Campioni analizzati</i>	47	8	5	19	7	2

Descrizione materiale			PIF	UVAC	AUTOCONTROLLO	PIANO DI MONITORAGGIO	CONTROLLO UFFICIALE
VONGOLE	21				19	2	
MITILI	3					3	
MITILI CONGELATI	1						1
OSTRICHE	5			5			
TELLINE	2					2	
MOLLUSCHI BIVALVI PRECOTTI CONGELATI	8		8				
CODE DI MAZZANCOLLE CONGELATE	1						1
RING TEST	6						



Ricerca di Norovirus Genogrupo GI e GII

ESITI 2015		UVAC	Autocontrollo	Piano di monitoraggio	Controllo ufficiale	Ring Test
Non rilevata presenza	25					
Rilevata presenza: GI e GII	6		1 Vongole	1 Mitili 1 Telline		3 Mitili
Rilevata presenza GII	11	1 Ostriche	5 Vongole	2 Mitili 1 Telline 2 Vongole		
Risultati inconclusivi	4	1 Ostriche	2 Vongole		1 Mitili	
Campioni non eseguibili	1	1 Ostriche				

2015 (primo semestre): 36% positività per Norovirus
8,5% inconclusivi



Ricerca del virus dell'Epatite A (HAV): molluschi

2014	NON RILEVATA PRESENZA	UVAC	AUTOCONTROLLO
<i>Campioni analizzati</i>	2	1 cannolicchi	1 vongole

2015	NESSUNA POSITIVITA'	PIF	Autocontrollo	Piano di Monitoraggio			
<i>Campioni analizzati</i>	34	1	14	19	Inconclusivo	Negativo	Non eseguibile
Vongole	16		14	2	2	14	
Mitili	15			15	2	13	
Capesante Congelate	1	1					1
Telline	2			2		2	



Ricerca del virus dell'Epatite A (HAV): frutti di bosco

2014	Campioni analizzati	USMAF	PRIC	Controllo ufficiale
NON RILEVATA PRESENZA	12	2 Mirtilli neri More	1 Frutti di bosco misti	9 2 mirtilli rossi 4 frutti di bosco misti 1 mirtilli neri 2 lamponi

2015	Campioni analizzati	USMAF	AUTOCONTROLLO	Controllo ufficiale
NON RILEVATA PRESENZA	11	9 Mirtilli congelati	1 carote 1 kiwi	1 lamponi





ISO/TS 15216-2 2013

Criticità (1)

Frutti di bosco e vegetali: alto contenuto di coloranti naturali (carotenoidi, antocianine, clorofille)



Inibiscono la reazione di PCR

La fase critica è nella purificazione/concentrazione del virus.

Materiali critici: le buste con il filtro

Importante: permettere alla soluzione di PEG/glicina di catturare tutto il virus





ISO/TS 15216-2 2013

Criticità (2)

Molluschi: Campioni con risultato "INCONCLUSIVO"

efficienza di estrazione inferiore all'1%

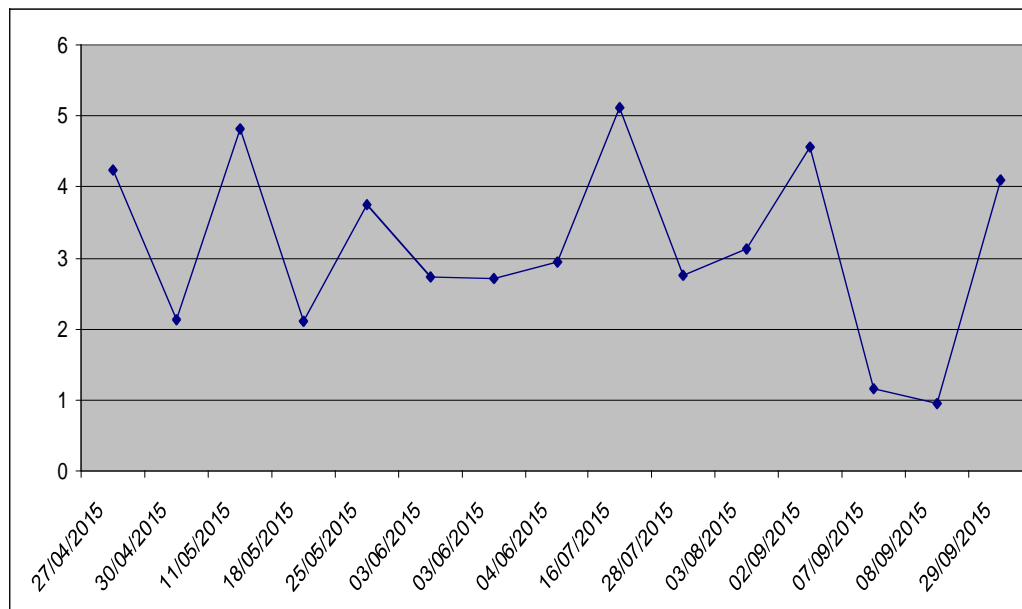
La fase critica è nel prelievo dell'epatopancreas .

La ISO prevede di usare per la curva standard un RNA (mengo virus) estratto con la tecnica della "bollitura" (5' a 95°C) mentre gli acidi nucleici del virus da ricercare e del controllo di processo sono estratti con una metodica più complessa ed articolata.

CONFRONTO NON APPROPRIATO!



data	Δ Ct	matrice	
27/04/2015	4,24	molluschi	
30/04/2015	2,14	molluschi	
11/05/2015	4,81	molluschi	
18/05/2015	2,1	molluschi	
25/05/2015	3,76	molluschi	
03/06/2015	2,73	kiwi/carote	solo estrazione RNA
03/06/2015	2,71	carote	
04/06/2015	2,94	molluschi	
16/07/2015	5,11	molluschi	
28/07/2015	2,75	molluschi	
03/08/2015	3,12	molluschi	
02/09/2015	4,57	molluschi	
07/09/2015	1,15	frutti di bosco	solo estrazione RNA
08/09/2015	0,96	frutti di bosco	
29/09/2015	4,09	molluschi	



Δ ct: Ct del controllo estratto MM-Ct del menzo “bollito”





Grazie dell'attenzione

