

“ACCREDITAMENTO FLESSIBILE NELL’AMBITO DELL’ANALISI DEI METALLI E ARMONIZZAZIONE DELLE PROCEDURE”

Dr. Claudia Focardi,

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana,
Sezione di Firenze*

Roma, 10 Ottobre 2017



INDICE DI PRESENTAZIONE

1. Contaminanti ambientali
2. Accreditamento con campo flessibile
3. Delibera 71 del 02/02/2017. Standardizzazione e razionalizzazione delle attività di prova nell'ambito della Chimica
4. Applicazione della Del. 71 agli Elementi chimici



Contaminanti chimici

«I contaminanti chimici sono sostanze non aggiunte intenzionalmente agli alimenti e la cui presenza può derivare dall' ambiente, dalla coltivazione e/o dal processo produttivo»

«I metalli pesanti sono contaminanti chimici»



Metalli Pesanti

In generale si definiscono metalli pesanti quei metalli con numero atomico superiore di quello del ferro (55) con una densita' molto elevata e che sono causa comune di inquinamento e tossicita' negli organismi biologici.

Tale definizione generica e' stata considerata recentemente da un rapporto IUPAC poco scientifica e non coerente, quindi ci si riferisce ai metalli pesanti quando si possono riscontrare le seguenti caratteristiche:

- densita' superiore ai 5,0 g/cm³
- si comportano in genere come cationi
- bassa solubilita' dei loro idrati
- spiccata attitudine a formare complessi
- affinita' verso i solfuri



Metalli Pesanti

Vengono normalmente considerati metalli pesanti i seguenti elementi:

alluminio, ferro, argento, bario, berillio, cadmio, cobalto, cromo, manganese,
mercurio, molibdeno, nichel, piombo, rame, stagno, titanio, tallio, vanadio, zinco,

ed alcuni metalloidi con proprieta' simili a quelle dei metalli pesanti, quali

l'arsenico, il bismuto ed il selenio



La strategia europea

- Assicurarsi il più alto standard di sicurezza alimentare è attualmente una priorità per l'Europa
- Istituzione dell' autorità alimentare europea (EFSA)
- Definizione di limiti massimi ammissibili (REG CE 1881/2006)
- Sistema rapido di allerta e sorveglianza rischi



La strategia europea

The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)

Network sugli alert comunitari (Reg. (CE) 178/2002 art. 50)

<http://ec.europa.eu/food/rapidalert/index.en.htm>

Alert 2016

Preliminary
Annual
Report
2016

Microrg. potenz. Patogeni (22%)
Micotossine (18%)
Pesticidi (8%)
Metalli pesanti (7%)
Additivi

.....



The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)

ANNO	Numero di segnalazioni RASFF (hazard category: heavy metals)
2007	266
2008	211
2009	255
2010	251
2011	282
2012	262
2013	287
2014	284
2015	219
2016	218



The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)

2016 - top 10 number of notifications

Number of notifications counted for each combination of hazard/product category/country.

- by origin

hazard	product category	origin	notifications
pesticide residues	fruits and vegetables	Turkey	77
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	Turkey	68
mercury	fish and fish products	Spain	62
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	Iran	56
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	China	49
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	United States	45
Salmonella	fruits and vegetables	India	46
aflatoxins	fruits and vegetables	Turkey	40
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	Egypt	32
aflatoxins	herbs and spices	India	32



The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)

- by notifying country

hazard	product category	notifying country	notifications
pesticide residues	fruits and vegetables	Bulgaria	71
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	Germany	65
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	Netherlands	63
mercury	fish and fish products	Italy	59
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	Italy	52
Salmonella	fruits and vegetables	United Kingdom	48
aflatoxins	nuts, nut products and seeds	United Kingdom	31
Salmonella	poultry meat and poultry meat products	Netherlands	29
too high count of Escherichia coli	bivalve molluscs and products thereof	Italy	28
high content of caffeine	dietetic foods, food supplements, fortified foods	Germany	24
pesticide residues	fruits and vegetables	Netherlands	24



Cosa chiede l'Europa

**Regolamento (CE)
2004/882**



Regolamento (EU) 2017/625
in vigore dal 27 Aprile
(si applicherà da Dicembre 2019)

«4. Le autorità competenti possono designare come laboratorio ufficiale un laboratorio che:

- a) possiede l'esperienza, le attrezzature e le infrastrutture necessarie per effettuare analisi, prove o diagnosi sui campioni;
- b) dispone di un numero sufficiente di addetti adeguatamente qualificati, formati ed esperti;
- c) garantisce che i compiti attribuitigli ai sensi del paragrafo 1 sono effettuati in modo imparziale ed esente da qualsiasi conflitto di interessi per quando riguarda l'adempimento dei propri compiti in qualità di laboratorio ufficiale;
- d) è in grado di fornire tempestivamente i risultati delle analisi, prove o diagnosi effettuate sui campioni prelevati durante i controlli ufficiali e le altre attività ufficiali;
- e) opera secondo la norma **EN ISO/IEC 17025** ed è stato accreditato secondo tale norma da un organismo nazionale di accreditamento operante in conformità del regolamento (CE) n. 765/2008.



Accreditamento

La competenza di un laboratorio è attestata dall'accreditamento.

Normalmente l'accreditamento di un laboratorio di prova viene definito con **scopo fisso** di accreditamento

- Lista fissa di tutti i metodi o procedure che il laboratorio può usare;
- Non sono concesse modifiche prima della revisione successiva.

Tale *modus operandi*

- non consente una rapida aggiunta di metodi nuovi o modificati agli scopi del laboratorio.

-Pur esistendo la possibilità di richiedere l'estensione dello scopo in ogni momento, la tempistica di detta estensione può impedire di ottemperare a specifiche richieste.

-Esso può risultare gravoso e non accettabile in quelle situazioni dove eventuali allerte richiedono rapidità di risposta dei laboratori preposti ai controlli ufficiali



«Flessibilità»

Regolamento (EU) 2017/625

5. L'accreditamento di un laboratorio ufficiale di cui al paragrafo 4, lettera e):

a) deve includere i metodi di analisi, prova o diagnosi di laboratorio che il laboratorio deve utilizzare per le analisi, prove o diagnosi quando esso opera in qualità di laboratorio ufficiale;

b) può comprendere uno o più metodi di analisi, prova o diagnosi di laboratorio, o gruppi di metodi;

c) può essere definito **in maniera flessibile**, in modo da consentire di integrare l'ambito dell'accreditamento per comprendere versioni modificate dei metodi impiegati dal laboratorio all'epoca dell'accreditamento, o nuovi metodi supplementari, sulla base delle convalide effettuate dal laboratorio stesso senza una valutazione preliminare dell'organismo nazionale di accreditamento prima dell'impiego di tali metodi modificati o nuovi.



ACCREDITAMENTO A SCOPO FLESSIBILE

Accredia Document. RT 26 rev.5

Prescrizioni per l'accreditamento con campo di accreditamento flessibile

- **Campo di accreditamento flessibile:**

descrizione più generica del campo di accreditamento, riguardo ai materiali/matrici/prodotti di prova od alle grandezze da determinare, compresa la possibilità, da parte del laboratorio, sulla base di competenze già valutate, di modificare i metodi di prova interni già accreditati, di ampliarne il campo di applicazione, di utilizzare nuove revisioni dei metodi normalizzati o di aggiungere nuovi metodi basati sulle stesse tecniche di quelli già accreditati.



ACCREDITAMENTO A SCOPO FLESSIBILE

Accredia Document. RT 26 re.5 Prescrizioni per l'accreditamento con campo di accreditamento flessibile

Aspetti fondamentali

- Flessibilità relativa alla matrice (estensione dei prodotti esaminati rispetto alla validazione iniziale)
- Flessibilità relativa ai parametri determinati (es. introduzione di nuovi principi attivi)
- Flessibilità relativa al metodo (introduzione di nuovi metodi basati sullo stesso principio).



ACCREDITAMENTO A SCOPO FLESSIBILE

Accredia Document. RT 26 re.5
**Prescrizioni per l'accreditamento con campo di
accreditamento flessibile**

Aspetti fondamentali

L'accreditamento con campo di accreditamento flessibile riconosce una maggiore responsabilità del laboratorio nel dimostrare che il modo in cui esso opera è valido, adatto allo scopo, e si svolge con competenza e coerenza.

- In particolare il laboratorio dovrà disporre oltre che della competenza tecnica per svolgere attività nel campo dell'accreditamento flessibile, anche della capacità di gestire le relative attività



ACCREDITAMENTO A SCOPO FLESSIBILE

Accredia Document. RT 26 re.5

Prescrizioni per l'accREDITAMENTO con campo di
accREDITAMENTO flessibile

Aspetti fondamentali

Domanda di estensione per l'accREDITAMENTO in campo flessibile

*La richiesta di accREDITAMENTO
in campo flessibile può essere
effettuata dal laboratorio **solo**
per le prove già accREDITATE
da almeno due anni.*



ACCREDITAMENTO A SCOPO FLESSIBILE

Accredia Document. RT 26 re.5

**Prescrizioni per l'accreditamento con campo di
accreditamento flessibile**

Obblighi del Laboratorio

- Dovranno essere inoltre indicate le modalità adottate per la pianificazione ed effettuazione delle varie fasi della validazione, per la formalizzazione dei parametri/risultati e delle frequenze con cui il laboratorio effettuerà i riesami della validazione.
- In particolare il laboratorio dovrà disporre di una procedura che dettagli la gestione del processo di validazione eseguito, con preciso riferimento ai criteri di definizione delle caratteristiche prestazionali del metodo e di accettazione /non accettazione dei valori determinati per ciascun parametro a fronte dei quali sarà effettuata la successiva dichiarazione di validazione.



IZSLT

Accreditamento Flessibile nell'ambito dei contaminanti

“PESTICIDI”

“METALLI PESANTI”

Laboratorio di Diossine e contaminanti di Roma
Laboratorio chimico di Firenze



Delibera 71 del 02/02/2017

«Area Chimica : Standardizzazione e Razionalizzazione delle attività di prova di area chimica»

Allegato 1 punto (2): Integrazione tra laboratori chimici

- a) *Armonizzazione procedure analitiche;*
- b) *Standardizzazione e razionalizzazione delle procedure analitiche*

Argomento	Incaricati	Periodo
Elementi chimici	Dr Focardi Dr Ubaldi	Gennaio, Aprile 2017

*Ilaria Amidei, Giulia Biancalani Federica Ramundi
Stefano Vaccari, Luca Alessandroni*



Delibera 71 del 02/02/2017

«Area Chimica : Standardizzazione e Razionalizzazione delle attività di prova di area chimica»

b) Standardizzazione e razionalizzazione delle procedure analitiche

Modalità Operative

Da un confronto iniziale sulle specifiche analitiche dei metodi reciprocamente sviluppati, in modo indipendente nei due laboratori, sono emerse differenze che necessitano un approfondimento. La revisione del metodo, adatto allo scopo, terrà conto dei risultati di ciascuno e dovrà essere adattato alle specifiche peculiarità delle diverse strumentazioni in dotazione ai due laboratori.



Delibera 71/17: Elementi chimici

Struttura del percorso

Fase 1. Definizione dell'obiettivo

Analisi delle procedure in essere



Fase 2. Valutazione

Apparecchiature, materiali
Norme e Regolamenti



Fase 3. Analisi

Predisposizione di un
piano di azione



*Procedura Operativa
Standard
(VMSI)*

Fase 4. Operativa
Implementazione analiti
e/o matrici



Delibera 71/17: Elementi chimici

Fase 1. Definizione dell'obiettivo

LABORATORIO CHIMICO DI FIRENZE

POS SIF 001 INT

(Hg- accreditamento flessibile per matrici)

POS SIF 009 INT

(As, Cd, Pb Sb, Be, Co, Cr, Mo, Ni, Tl, V accreditamento flessibile per matrici)

POS SIF 033 INT

(As, Cd, Pb Se, Cu, Zn, accreditamento fisso- alimenti per animali)

LABORATORIO DIOSSINE E CONTAMINANTI AMBIENTALI DI ROMA

POS CHI 011 INT (Hg- alimenti per animali, spezie aromi accreditamento fisso)

POS CHI 041 INT (Hg- prodotti ittici, accreditamento fisso)

POS CHI 028 INT

(Cd, Pb, alimenti per animali, accreditamento fisso in assorbimento atomico)

POS CHI 079 INT (Cd, Pb, alimenti per l'uomo, accreditamento fisso in assorbimento atomico)



Delibera 71/17: Elementi chimici

Fase 1. Definizione dell'obiettivo

1 procedura per la determinazione del mercurio nelle varie matrici

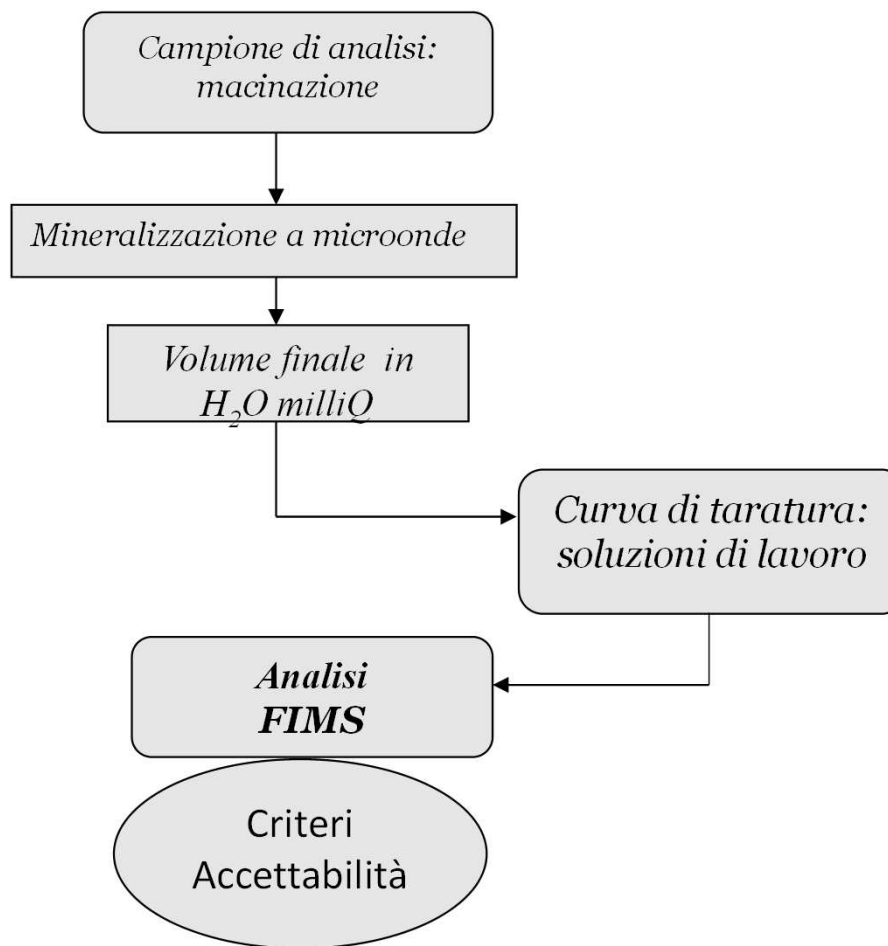
1 procedura per la determinazione degli altri elementi nelle varie matrici



Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 2. Valutazione

Firenze

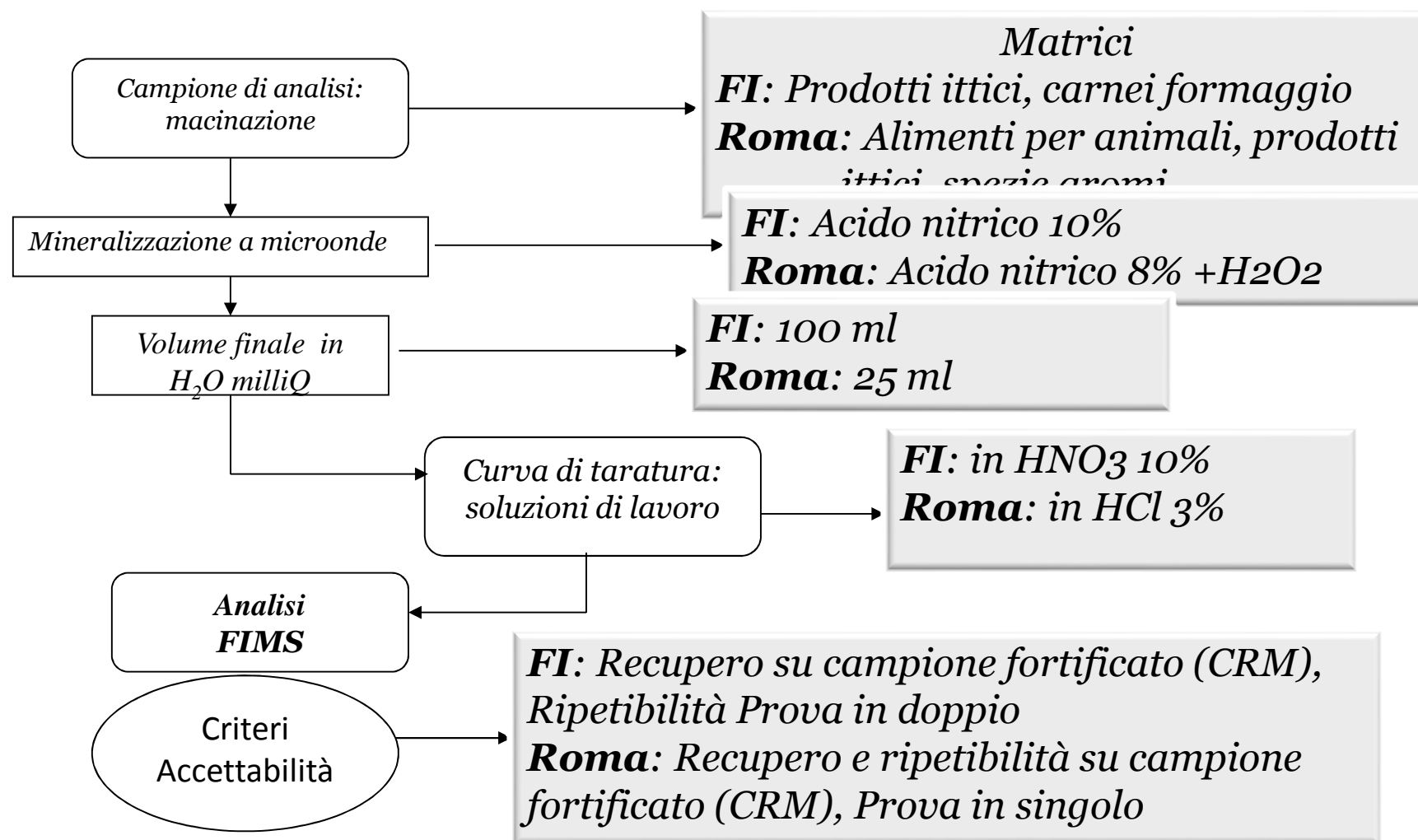


Roma



Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 2. Valutazione

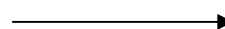


Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 3. Predisposizione di un piano di azione

Campioni di analisi

FI: Validazione Alimenti per animali
(mineralizzazione di 0,5g di campione)



POS SIF 001 INT
Accreditamento
flessibile

Mineralizzazione a microonde

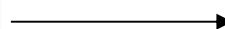
Roma: Verifica incidenza di una
minore concentrazione di acido nitrico

Volume finale

FI: Curva 1, curva 2
Roma: Curva 3

Curva di taratura

FI: Prove di robustezza. Confronto tra
standard in HNO_3 10% e in HCl 3%



*l'acido nitrico durante la
mineralizzazione funziona da agente
ossidante e si trasforma in ossidi di
azoto*



Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 4. Fase Operativa

Validazione Alimenti per animali

Accuratezza	$80 < R(\%) < 120$
LOQ*	$X_{(LOD)} = \frac{3.9 * s_{y,b}}{b}$ $X_{(LOQ)} = 3.3 * X_{(LOD)}$ $LOQ = \frac{X_{(LOQ)} \times V}{M \times 1000}$
Incerteza di misura	$\dot{u}(C) = \sqrt{\dot{u}(P)^2 + \dot{u}(V)^2 + \dot{u}(M)^2 + \dot{u}(C_x)^2 + \dot{u}(R)^2}$

**Guidance Document on the estimation of LOD and LOQ for measurements in the field of contaminants in feed and food EURL 2016*



Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 4. Fase Operativa

	<u>Alimenti per animali</u>
n	14
C _M (mg/Kg)	0.106
s (mg/kg)	0.015
R (%)	106,2
RSD(%)	14,3
r (mg/kg)	0.04
LOD (mg/kg)	0,03
LOQ (mg/kg)	0,09
Urel(C)	0,17
<u>V_{eff}</u>	36



Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 4. Fase Operativa

Curva di taratura

Sono stati preparati gli standard della curva 1 della POS SIF 001 INT sia con HNO3 10% che con HCl al 3% e ne è stata valutata la robustezza come riportato nel modulo PG CHI 003-1 rev.4

N. variabile	Descrizione variabile	Differenze nelle concentrazioni di analita (Vi)	Quadrati delle differenze (Vi ²)	(Vi ²)/7
1	STD 6	0,001	0,000000	0,000000
2	STD 8	0,001	0,000001	0,000000
3	STD 10	0,002	0,000005	0,000001
4	STD 12	0,005	0,000020	0,000003
SOMMATORIA (Vi ²)/7				0,000004
S _D ²				0,000008
S _{Di} (scarto tipo differenze)				0,002774
S _r (scarto tipo di riproducibilità a CCalfa)				0,010911
GIUDIZIO				metodo robusto



Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 4. Fase Operativa

Curva di taratura

	H		CURVA 1	(ng/ml)	
data	0	5	8	10	15
18/09/2017	0,0000	0,0947	0,1437	0,1814	0,2672
18/09/2017	0,0000	0,0937	0,1429	0,1809	0,2639
18/09/2017	0,0000	0,0917	0,1382	0,1757	0,2552
MEDIA	0,0000	0,09	0,14	0,18	0,26
DS	0,0000	0,002	0,003	0,003	0,006

	H		CURVA2	(ng/ml)	
data	0	0,1	0,5	1	2
01/09/2017	0,0000	0,0108	0,0536	0,1047	0,2129
12/09/2017	0,0000	0,0088	0,0477	0,0960	0,1980
12/09/2017	0,0000	0,0084	0,0481	0,0975	0,2004
12/09/2017	0,0000	0,0097	0,0521	0,1059	0,2145
14/09/2017	0,0000	0,0081	0,0479	0,0970	0,1948
MEDIA	0,0000	0,01	0,05	0,10	0,20
DS	0,0000	0,001	0,003	0,005	0,01



Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 4. Fase Operativa

Criteri di accettabilità

FI: Recupero su campione fortificato (CRM), Ripetibilità Prova in doppio

Roma: *Recupero e ripetibilità su campione fortificato (CRM), Prova in singolo*

Nella sequenza di analisi il campione può essere comunque effettuato in doppio

Nel caso di campioni il cui valore di concentrazione risulti pari o superiore al 80% del limite di legge, occorre ripetere l'analisi eseguendo la prova in doppio

- *Alimenti per gli animali:*

Come riportato nel Reg 152/2009 Allegato II punto 3 “se il risultato della prima determinazione risulta significativamente inferiore ($> 50\%$) al valore della specifica oggetto di controllo, non è necessario procedere a ulteriori determinazioni, a condizione che si applichino le procedure appropriate in materia di qualità. In altri casi, è necessaria una seconda analisi (seconda determinazione) per escludere la possibilità di una contaminazione crociata interna o di uno scambio accidentale dei campioni. La media delle due determinazioni, che tiene conto dell'incertezza di misura, è utilizzata per verificare la conformità.”



Delibera 71/17: Elementi chimici «Mercurio»

Fase 1. Definizione dell'obiettivo



Fase 2. Valutazione



Fase 3. Analisi



Fase 4. Operativa



***Procedura Operativa
Standard***



Delibera 71/17: Elementi chimici

As, Cd, Pb Sb, Be, Co, Cr, Mo, Ni, Tl, V, Se, Cu, Zn

Fase 2. Valutazione

Viene studiata la POS SIF 009 INT (ICP MS) in modo da poter essere applicata in entrambi i laboratori.

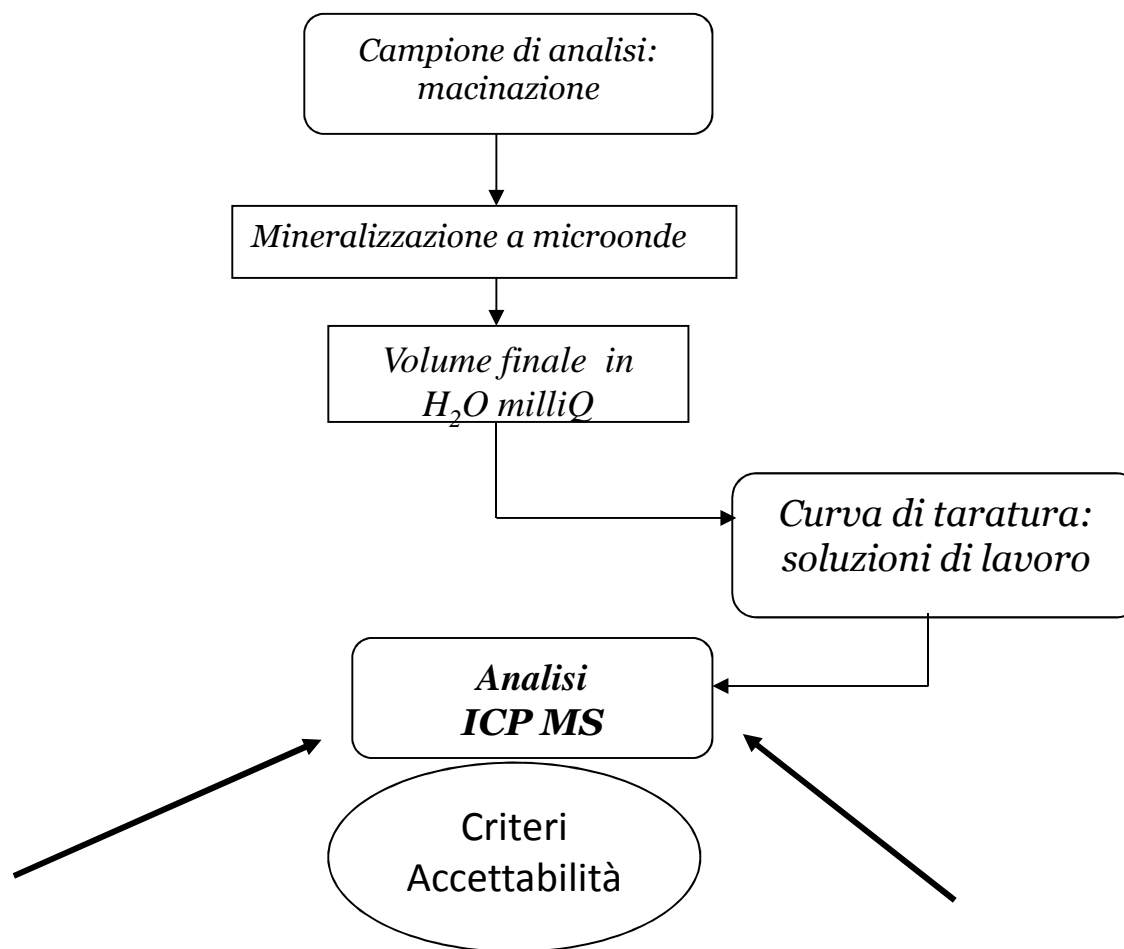
Estesa a tutte le matrici e a tutti gli analiti già accreditati



Delibera 71/17: Elementi chimici

As, Cd, Pb Sb, Be, Co, Cr, Mo, Ni, Tl, V, Se, Cu, Zn

Fase 2. Valutazione



Delibera 71/17: Elementi chimici

As, Cd, Pb Sb, Be, Co, Cr, Mo, Ni, Tl, V, Se, Cu, Zn

Fase 3. Predisposizione di un piano di azione

VERIFICA PRESTAZIONI DEGLI STRUMENTI

- *Preparazione soluzione standard come da POS SIF 009 INT*
- *Preparazione soluzione standard con materiale di riferimento di seconda sorgente (RG CHI 559)*
- *Mineralizzazione del campione RG CHI 551*



Delibera 71/17: Elementi chimici

As, Cd, Pb Sb, Be, Co, Cr, Mo, Ni, Tl, V, Se, Cu, Zn

Fase 3. Predisposizione di un piano di azione



Delibera 71/17: Elementi chimici

As, Cd, Pb Sb, Be, Co, Cr, Mo, Ni, Tl, V, Se, Cu, Zn

Fase 4. Fase Operativa

ROMA																									
		valore	incertezza						valore	incertezza						valore	incertezza								
		0,306	0,015	CADMIO						0,416	0,053	PIOMBO						6,8	0,64	ARSENICO					
n	D	Test F a due campioni per varianza								Test F a due campioni per varianza								Test F a due campioni per varianza							
		P(g)	Cx (ng/ml)	C (mg/kg)	R(%)					Cx (ng/ml)	C (mg/kg)	R(%)					Cx (ng/ml)	C (mg/kg)	R(%)						
1	1	0,25	0,7151	0,29	83,2					0,0914	0,397	95,3					18,3	7,320	107,6						
2	1	0,25	0,72	0,27	83,2							83,2											107,1		
		Media	0,72	0,288	0,271198					Media	0,93	0,3713	0,469455	89,3			Media	18,25	7,3	6,80239			107,4		
		Varianza	0,01	1,52E-05	1,59E-07					Varianza	0,001276	1,087E-05					Varianza	0,0008	1,14E-05						
		Osservazi	2	2	2					Osservazi	9,6	2	9,6	2			Osservazi	0,4	2	0,4	2				
		gdl	1	1	1					gdl	1	1	1				gdl	1	1	1					
		F	95,90373							F	68,36754						F	70,00111							
		P(F<=f) ur	0,064783							P(F<=f) ur	0,076622						P(F<=f) ur	0,075731							
		F critico	161,4476							F critico	161,4476						F critico	161,4476							
		valore	incertezza						valore	incertezza						valore	incertezza								
		0,306	0,015	CADMIO						0,416	0,053	PIOMBO						6,8	0,64	ARSENICO					
n	D	P(g)	Cx (ng/ml)	C (mg/kg)	R(%)					Cx (ng/ml)	C (mg/kg)	R(%)					Cx (ng/ml)	C (mg/kg)	R(%)						
1	1	0,251	0,68	0,27	88,5					1,186	0,473	113,6					17,08	6,805	100,1						
2	1	0,25	0,6787	0,27	88,7					1,166	0,466	112,1					17	6,800	100,0						
		C _M	0,68	0,27	88,6					C _M	1,18	0,47	112,8				C _M	17,04	6,80	100,0					
		s	0,00	0,000						s	0,01	0,00					s	0,06	0,003						
		RSD	0,1	0,1						RSD	1,2	0,9					RSD	0,3	0,050						
		r	0,00							r	0,16						r	0,009							



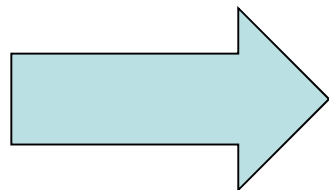
Delibera 71/17: Elementi chimici

As, Cd, Pb Sb, Be, Co, Cr, Mo, Ni, Tl, V, Se, Cu, Zn

Fase 4. Fase Operativa

Revisione LOD LOQ (reg 333/2007 e sm)

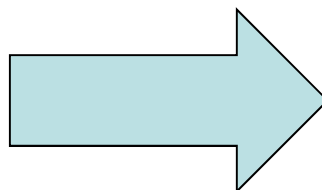
*Arsenico,
Cadmio
Piombo
Nichel
Tallio*



Latte, Prodotti carnei,

Validazione nuove matrici

*Cadmio
Piombo*



*Cacao, cioccolato, cereali e
leguminose*



Delibera 71/17: Elementi chimici

As, Cd, Pb Sb, Be, Co, Cr, Mo, Ni, Tl, V, Se, Cu, Zn

Fase 1. Definizione dell'obiettivo

Fase 2. Valutazione

Fase 3. Analisi

Fase 4. Operativa



***Procedura Operativa
Standard***



CONCLUSIONI

- Accreditamento flessibile unica via possibile per il futuro dei laboratori che operano nel controllo ufficiale.
- Armonizzazione delle Procedure:
processo necessario, ma che richiede per poter essere attuato una integrazione effettiva tra le strutture coinvolte, partendo dall'analisi delle realtà coinvolte, nel rispetto del loro “storico”.

