

MONOGRAFIE

Sicurezza alimentare dei mangimi utilizzati in acquacoltura: i controlli ufficiali

Fish feedingstuffs safety: official controls

Stefania Squadrone*, Daniela Marchis, Maria Cesarina Abete

C.Re.A.A., Centro di Referenza Nazionale per la Sorveglianza ed il Controllo degli Alimenti per Animali;
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 - 10154 Torino

RIASSUNTO - Si fornisce una panoramica sull'attività di controllo ufficiale che l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta e l'annesso Centro di Referenza Nazionale per la Sorveglianza e il Controllo degli Alimenti per Animali (C.Re.A.A.) esegue nel campo dei mangimi utilizzati in acquacoltura. In particolare si esaminano le tematiche del Piano Nazionale per l'Alimentazione Animale (PNAA) su proteine animali trasformate, additivi, farmaci, PCB e diossine, micotossine, metalli pesanti, pesticidi, *Salmonella* spp. e OGM.

SUMMARY - A review of the Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta and the National Reference Center for Animal Feed Surveillance and Monitoring (C.Re.A.A.) activities for the official controls on aquaculture feedingstuffs is provided. In particular the National Plan for Animal Nutrition (PNAA) topics, e.g. animal proteins, additives, drugs, PCB and dioxins, mycotoxins, heavy metals, pesticides, *Salmonella* spp and OGM, are examined.

Keywords: Feedingstuffs, Aquaculture, PNAA, Official controls.

* Corresponding author: c/o Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 - 10154 Torino, Italy. Tel.: 011-2686238; Fax: 011-2686228; E-mail: stefania.squadrone@izsto.it.

INTRODUZIONE

Per tutelare la sicurezza alimentare dal primo gennaio 2006 sono entrati in vigore una serie di norme riguardanti i criteri microbiologici da applicare alle derrate, la regolamentazione dei controlli ufficiali e il regolamento sull'igiene dei mangimi.

Queste norme sono da applicare in ogni passaggio della catena alimentare e tutti gli operatori coinvolti (coltivatori, produttori, commercianti, fornitori) sono direttamente responsabili dell'applicazione degli standard di sicurezza richiesti per qualsiasi alimento o mangime, messo in commercio in Europa.

Il Ministero della Salute è il punto di riferimento per le attività di controllo ufficiale dei prodotti alimentari e coordina i piani nazionali e comunitari di monitoraggio in materia di sicurezza alimentare. Il controllo ufficiale ha lo scopo di verificare e garantire la conformità dei prodotti alimentari alle disposizioni e prevenire i rischi per la salute pubblica. A livello centrale e regionale sono affidate prevalentemente, oltre ai compiti normativi nell'ambito delle diverse competenze, le funzioni di programmazione, indirizzo e coordinamento. In particolare nell'ambito delle problematiche riguardanti il controllo degli alimenti zootecnici per l'acquacoltura, il Ministero della Salute ha il compito di predisporre sul territorio nazionale i controlli sull'alimentazione animale al fine di garantire la qualità igienico-sanitaria dei prodotti.

Il Ministero delle Politiche Agricole e Forestali invece, assicura sul territorio i controlli sull'alimentazione animale per garantire la qualità merceologica dei prodotti.

Le autorità sanitarie competenti (ASL), visto il numero d'impianti di acquacoltura presenti in Italia (circa un migliaio), eseguono costanti controlli su tutti gli impianti di competenza territoriale, con prelievi non solo sul prodotto, ma anche sui mangimi, riducendo al minimo i rischi di natura igienico-sanitaria del consumatore.

In ambito Regionale vige il Piano Nazionale di vigilanza sanitaria sull'Alimentazione Animale (PNAA). E' un piano di intervento emanato dal Ministero della Salute e recepito dalle Regioni, che lo adattano alla loro realtà territoriale e zootecnica. Il piano ha lo scopo di garantire la salubrità e la sicurezza dei prodotti di origine animale destinati al consumo umano attraverso un sistema di controlli sull'alimentazione zootecnica.

L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (IZSPLVA) è un organo del Sistema Sanitario Nazionale, deputato al controllo ufficiale della salubrità dei prodotti alimentari destinati al consumo umano e dei mangimi. Dal 2003 è stato istituito, con decreto del Ministero della Salute, il Centro di Referenza Nazionale per la Sorveglianza e il Controllo degli Alimenti per Animali (C.Re.A.A.), al fine di costituire un punto di riferimento nazionale per le problematiche riguardanti gli alimenti destinati ad uso zootecnico.

Nell'ambito delle attività del C.Re.A.A. rientrano a pieno titolo quindi anche gli argomenti circa gli alimenti ad uso zootecnico impiegati in acquacoltura.

I mangimi utilizzati per l'alimentazione dei pesci sono composti principalmente da farina di pesce e olio di pesce, in percentuali che variano dal 50% all'80%. L'impiego di tali materie è determinante per l'ottenimento di mangimi di elevata qualità, perché non si tratta di sottoprodotti, ma di derivati da pesce fresco di basso pregio commerciale. Sono poi utilizzate materie prime protette di origine vegetale, costituite in gran parte da farine di soia; inoltre possono venire utilizzati amidi derivanti dal frumento come leganti. Per quanto concerne le proteine di origine animale e in particolare le farine di carne, non sono ormai da tempo utilizzate nella composizione di mangimi per pesci.

Il PNAA 2006 ha previsto controlli ufficiali sui mangimi per i pesci relativi alla presenza di: proteine animali trasformate, farmaci e additivi, metalli pesanti, pesticidi, PCB e diossine, micotossine, *Salmonella* spp., organismi geneticamente modificati (OGM).

PROTEINE ANIMALI TRASFORMATE

Il quadro normativo per la ricerca delle farine animali ha previsto all'inizio con la Decisione del Consiglio 2000/766/CE, il divieto di somministrazione di proteine animali trasformate per tutti gli animali di allevamento, con deroghe per le farine di pesce ai non ruminanti, latte, prodotti a base di latte, proteine idrolizzate e fosfato dicalcico. Successivamente, la Decisione della Commissione 2001/9/CE ha posto restrizioni in merito alle deroghe della precedente decisione (autorizzazioni particolari); le farine di pesce in particolare, sono consentite solo se prodotte in stabilimenti ad esclusiva produzione e in quelli che non producono mangimi per ruminanti. La Decisione della Commissione 2001/165/CE ha vietato la produzione di pet-food contenenti proteine animali, in impianti che producono alimenti per animali di allevamento, salvo che non si producano farina di pesce, fosfato dicalcico o proteine idrolizzate. Il Regolamento CE 1292/2005 (che ha modificato il Regolamento CE 999/2001), ha fissato divieti in materia di alimentazione degli animali ad uso zootecnico. E' vietato somministrare a tutti gli animali ad uso zootecnico, eccezion fatta per gli animali carnivori per produzione di pelliccia, proteine animali trasformate, gelatina proveniente da ruminanti, prodotti sanguigni, proteine idrolizzate, fosfato di/tricalcico di origine animale. Per i ruminanti tale divieto è esteso a tutte le proteine animali e agli alimenti contenenti tali proteine. Per un quadro riassuntivo delle deroghe vedere Tabella 1.

REGOLAMENTO COMMISSIONE CE 1292/2005: DEROGHE ai divieti -

alimenti per non ruminanti	alimenti per ruminanti	mangimi per pesci
farine di pesce	latte, prodotti a base di latte	prodotti sanguigni e farine di sangue derivati da non ruminanti *
proteine idrolizzate derivate da cuoio e pelli	uova, e prodotti a base di uova	
fosfato di/tricalcico	gelatina derivata da non ruminanti	

*(N.B. gli alimenti per animali contenenti farine di pesce sono prodotti in centri autorizzati)

Tabella 1 – Deroghe ai divieti secondo il Regolamento CE 1292/2005.
 Table 1 - Waiver bans according to Regulation CE 1292/2005.

Evidentemente tali divieti vanno applicati anche nell'ambito degli alimenti per pesci, per i quali è vietato l'utilizzo di farine di animali terrestri, mentre è consentito l'uso di farine di pesce.

La ricerca delle farine di carne viene effettuata utilizzando il metodo ufficiale descritto nel D.M. 9/9/2004, in recepimento della Direttiva 2003/126/CE, che prevede l'esame allo stereomicroscopio e al microscopio ottico e permette l'identificazione del tessuto osseo (frammento). L'identificazione di componenti differenti dal tessuto osseo, come cornee, tessuto muscolare, gelatine, sangue, penne e piume, con questo metodo però è piuttosto difficoltosa; il risultato viene di norma espresso in termini qualitativi. I punti deboli della metodica risiedono nel limite di rivelabilità, che è $< 0,1\%$ e la soggettività della lettura, poiché molto dipende dall'esperienza del singolo operatore. Ci sono inoltre limiti e talvolta dubbi nell'identificazione di specie, (volatile/mammifero; bovino/suino/ovino; mammiferi terrestri/acquatici). L'analisi quantitativa è possibile, ma difficoltosa e indagine.

Il D.M. 9/9/2004 fa esplicito riferimento all'eventuale impiego di "metodi diversi o alternativi, per migliorare l'identificazione di taluni tipi di costituenti di origine animale o per specificarne l'origine", la cui validità scientifica sia stata comprovata. Sono stati sperimentati metodi di Microscopia Elettronica, ELISA, PCR, Spettroscopia NIR.

La tecnica della microscopia elettronica a trasmissione (TEM) consente l'ottenimento di immagini di tessuti ossei con dettagli impossibili da visualizzare con la microscopia ottica e permette di identificare con accuratezza e precisione l'origine zoologica dei frammenti ossei isolati sulla base della differente morfologia dei cristalli di idrossiapatite. I suoi limiti risiedono nell'elevato costo dello strumento, la laboriosa preparazione del campione e la lunga e complessa formazione di un operatore esperto.

Per quanto riguarda la tecnica ELISA, sono state identificate sequenze peptidiche indirizzate all'individuazione di proteine animali (proteine sieriche) usate per produrre anticorpi monoclonali e policlonali. La tecnica ELISA rileva la presenza di proteine animali trasformate, anche quelle che non si evidenziano al microscopio ottico, ma ha difficoltà a identificare la specie.

Infine la PCR (Polymerase Chain Reaction) ha dimostrato sensibilità, precisione e specificità, poiché permette di rilevare la presenza di DNA proveniente da residui animali nei mangimi e l'identificazione di specie (ruminante, suino, volatile e pesce) con tempi di analisi ridotti. Tuttavia l'analisi in PCR non permette di discriminare tra prodotti di origine animale consentiti (sangue, latte, ecc.) e costituenti di origine animale vietati.

Una tecnica recente per la determinazione di farine animali nei mangimi è la microscopia FT-NIR, che usa come strumentazione uno spettrofotometro a trasformata di Fourier (FT) nel vicino infrarosso (NIR), abbinato ad un microscopio ottico. Tale abbinamento permette sia l'osservazione del campione nel campo del visibile, sia l'analisi degli spettri NIR nella regione da 4000 a 10000 cm^{-1} . Questo metodo non si basa su valutazioni soggettive ma, attraverso il riconoscimento strumentale, consente di oggettivare il risultato analitico.

L'analisi in microscopia FT-NIR, come quella in PCR, può essere considerata una metodica complementare di ausilio al metodo microscopico ufficiale.

FARMACI E ADDITIVI

Il PNAA prevede la ricerca di Cloramfenicolo, Nitrofurani, Chinoloni, Penicilline, Ivermectina.

I farmaci vietati in base al Regolamento CE 2377/90 (Allegato IV) sono Cloramfenicolo e Nitrofurani. La ricerca dei farmaci si esegue su mangime e acqua.

Il cloramfenicolo è un antibiotico ad ampio spettro d'azione, antibatterico e a costo relativamente elevato, efficace contro le setticemie batteriche. È vietato da molti anni per problemi connessi all'insorgenza di farmacoresistenza nell'uomo e nel 2003 è stato oggetto di allerta comunitaria per la presenza in prodotti di acquacoltura di provenienza asiatica.

I nitrofurani (furazolidone, nitrofurantoina, nitrofurazone, furaltadone, ecc.) sono chemioterapici antibatterici, di costo contenuto. Sono vietati da diversi anni perché nefrotossici e nel 2003 sono stati oggetto di allerta comunitaria per la presenza in prodotti di acquacoltura di provenienza asiatica.

I farmaci ammessi in acquacoltura secondo il Regolamento CE 2377/90 sono Tetracicline, Penicilline, Chinoloni, Sulfamidici, Trimetoprim.

La tetraciclina, la clortetraciclina e l'ossitetraciclina sono le tetracicline consentite nella terapia dei pesci. Questi sono gli antibiotici più comunemente usati per l'ampio spettro d'azione antibatterico, la contenuta tossicità e il costo non elevato. La somministrazione avviene tramite mangime medicato ed ha come indicazioni numerose patologie di origine batterica sostenute sia da Gram negativi, sia da Gram positivi. In laboratorio la ricerca delle tetracicline viene estesa alle molecole doxiciclina e demeclociclina, che non sono ammesse in acquacoltura. Tra le penicilline è ammesso l'uso della amoxicillina.

Altra classe di chemioterapici antibatterici di largo utilizzo sono i chinoloni, di cui è ammessa la flumechina. La ricerca viene di norma estesa all'acido nalidixico, acido oxolinico, ciprofloxacina, norfloxacina ed enrofloxacina, molecole non ammesse in ittiocoltura.

Anche i sulfamidici sono chemioterapici antibatterici ad ampio spettro e vengono somministrati come alimento medicato. Si estende la ricerca a sulfadiazina, sulfatiazolo, sulfamerazina, sulfametazina, sulfamonometossina, sulfadimetossina, sulfachinossalina e sulfapiridina.

L'analisi dei mangimi per la ricerca di farmaci e additivi prevede l'utilizzo di metodi di screening e successivamente in caso di positività, metodi di conferma. I metodi di screening consentono di analizzare un elevato numero di campioni in tempi brevi, rilevano la presenza di una sostanza o di una classe di sostanze e hanno generalmente costi contenuti. Lo svantaggio nel loro impiego è la possibilità di falsi positivi: perciò in questi casi i campioni devono essere processati con un secondo metodo (di conferma). I metodi di conferma, basati su tecniche di spettroscopia molecolare, permettono l'identificazione univoca e quantitativa dell'analita. La Tabella 2 riassume i vari farmaci utilizzati e le metodiche strumentali per rilevarli.

MOLECOLA	CONSENTITA	MRL	Metodo di SCREENING	Metodo di CONFERMA
Cloramfenicolo	no	-	ELISA / HPLC	HPLC-DAD / HPLC-MS
Nitrofurani	no	-	HPLC	HPLC-DAD / HPLC-MS
Tetracicline	tetraciclina, clortetraciclina, ossitetraciclina	100 ng/g nel muscolo	HPLC	HPLC-DAD / HPLC-MS
Penicilline	amoxicillina	50 ng/g nel muscolo	HPLC / saggio microbiologico	HPLC-fluorimetrico
Chinoloni	flumechina	600 ng/g nel muscolo	HPLC / saggio microbiologico	HPLC-fluorimetrico
Sulfamidici	si	100 ng/g nel muscolo	HPLC	HPLC-DAD

Tabella 2 – Metodiche strumentali per il rilevamento dei farmaci e loro MRL.
Table 2 - Experimental methods to detect drugs and related MRLs.

METALLI PESANTI

Il PNAA prevede la ricerca di Arsenico (As), Cadmio (Cd), Cromo (Cr), Mercurio (Hg), Piombo (Pb), Ferro (Fe), Rame (Cu) e Zinco (Zn). L'analisi per la ricerca dei metalli pesanti viene eseguita tramite spettrofotometria di assorbimento atomico: il mangime viene mineralizzato con una miscela di acidi e agenti ossidanti e, la soluzione così ottenuta, viene analizzata allo spettrofotometro. A seconda del metallo si utilizza per l'atomizzazione: la tecnica della fiamma per Cr, Fe, Cu e Zn, il fornello di grafite per As, Cd e Pb e la tecnica degli idruri per il Hg.

Il 95% dell'Arsenico presente nelle materie prime per mangimi di origine marina è nella forma organica, che possiede una tossicità limitata, mentre la forma inorganica è molto tossica.

Nel 2003 il Cadmio è stato oggetto di allerta comunitaria per la sua presenza riscontrata in mangimi completi per pesci. Questo elemento può essere accumulato con conseguenti gravi rischi sanitari vista la sua azione cancerogena. Il Comitato Scientifico per l'Alimentazione Animale raccomanda di ridurre l'esposizione alimentare, poiché i prodotti alimentari sono la fonte principale dell'assunzione umana di cadmio; perciò il tenore massimo di cadmio nei mangimi dovrebbe essere quanto più basso possibile.

Anche il Cromo, nel corso dell'anno 2005 è stato oggetto di allerta comunitaria, in seguito al suo rilevamento in premiscele per alimenti per pesci. Questo elemento non è autorizzato come additivo nell'alimentazione animale. Il Cromo trivalente è un potente catalizzatore delle reazioni di ossidazione dei grassi ed è naturalmente presente nelle foraggiere, al 50% in forma organica. Per questo elemento non è previsto un limite massimo di accettabilità, ma si ritengono sospetti valori superiori a 3 mg/kg in mangimi completi, mentre nelle premiscele valori superiori a 40 mg/Kg indicano una possibile aggiunta volontaria.

Il Mercurio può essere accumulato con conseguenti gravi rischi sanitari, poiché ha azione cancerogena (metilmercurio). La contaminazione del pesce e dei prodotti della pesca è però generalmente di origine ambientale.

Per quanto riguarda il Piombo, l'assorbimento di questo elemento può costituire un grave rischio sanitario per conseguenti patologie cardiovascolari. Il Comitato Scientifico per l'Alimentazione Animale ha dichiarato che il tenore medio di piombo nei prodotti alimentari non sembra destare preoccupazione; tuttavia è necessario ridurre ulteriormente la contaminazione e il tenore massimo nei mangimi dovrebbe essere quanto più basso possibile.

Nella Tabella 3 vengono riassunti i limiti massimi consentiti per i tenori di As, Cd, Cr, Hg e Pb nei mangimi per acquacoltura.

Ferro, Rame e Zinco sono invece oligoelementi autorizzati come additivi, in conformità al Regolamento 2003/1831/CE. Lo stato attuale delle conoscenze scientifiche e tecniche invita a ridurre il tenore di questi oligoelementi nei mangimi in conformità alla legislazione, adeguandoli al reale fabbisogno fisiologico degli animali; la Tabella 4 riassume i tenori massimi di questi elementi.

PESTICIDI, PCB E DIOSSINE

Le caratteristiche salienti di pesticidi, policlorobifenili (PCB) e diossine sono stabilità termica, scarsa volatilità, idrofobicità, resistenza all'ossidazione e lipofilia: sono quindi molecole che danno bioaccumulo.

I pesticidi organoclorurati sono stati in passato molto utilizzati per il controllo degli insetti in campo agricolo e sanitario, ma attualmente sono stati banditi in tutta Europa e per alcuni di essi, vista l'alta tossicità e la notevole persistenza nell'ambiente, il bando è mondiale.

Elemento	Contenuto max in mg/Kg (umidità 12%)	Regolamenti
As	mangimi completi per pesci: 6	D.L. n. 149 del 10/05/2004 (Dir. 2003/100/CE)
Cd	in mangimi completi per pesci: 0,5 materie prime per mangimi di origine animale: 2	D.L. n. 149 del 10/05/2004 (Dir. 2003/100/CE)
Cr	< 3 in mangimi completi < 40 in premiscele	consigliati
Hg	mangimi completi per pesci: 0,1 materie prime per mangimi derivanti dalla trasformazione di pesci o di altri animali marini: 0,5	Reg. CE 466/2001 Decreto 3 ottobre 2006
Pb	mangimi completi per pesci: 5 per materie prime e per mangimi: 10	D.L. n. 149 del 10/05/2004 (Dir. 2003/100/CE)

Tabella 3 – Limiti consentiti per alcuni metalli pesanti.
Table 3 – Allowed limits for some heavy metals.

Regolamento CE N. 1334/2003: mangimi per pesci (tenore massimo dell'elemento in mg/kg di alimento completo)	
Ferro	750
Cobalto	2
Rame	25
Rame (crostacei)	50
Manganese	100
Zinco	200

Tabella 4 – Tenori massimi consentiti per gli oligoelementi.
Table 4 - Allowed levels for trace elements.

Il PNAA prevede la ricerca delle molecole quali Aldrin, Dieldrin, Canfene (Toxafene), Clordano, DDT, Endosulfan, Endrin, Eptacloro, Esaclorobenzene, Esaclorocicloesano (Tabella 5).

Fino agli anni '80 i PCB sono stati utilizzati nell'industria dei fluidi idraulici, plastificanti, adesivi, collanti, additivi per pesticidi e lubrificanti, condensatori e trasformatori, ecc.

I PCB sono un gruppo di 209 congeneri diversi che, in base alla proprietà tossicologiche, possono essere suddivisi in PCB diossina-simili e PCB non diossina-simili.

Il Comitato Scientifico per l’Alimentazione Animale nel 2000 ha individuato nelle farine di pesce e nell’olio di pesce, le materie prime dei mangimi più pesantemente contaminati.

Attualmente la legislazione comunitaria ha fissato i livelli massimi di contaminazione per le diossine e i furani e non per i PCB diossina-simili, in quanto si dispone di scarsi dati relativamente alla presenza di questi ultimi. I tenori massimi consentiti per la diossina negli alimenti per animali tra cui i pesci sono riportati in Tabella 6.

Alimenti per animali	Tenore massimo di diossina (riferito ad alimenti con il 12% di umidità) ¹
Materie prime di origine vegetale compreso oli	0,75 ng/kg
Minerali	1,00 ng/kg
Grassi animali	2,00 ng/kg
Latte e uova	0,75 ng/kg
Olio di pesce	6,00 ng/kg
Farine di pesce e loro sottoprodotti	1,25 ng/kg
Mangimi composti per suini e bovini	0,75 ng/kg
Mangimi per pesci e mangimi per animali da compagnia	2,25 ng/kg

¹ = valori espressi in ng/Kg di OMS-PCDD/F TEQ, vale a dire la somma di PoliCloro-Dibenzo-paraDiossine (PCDD) e PoliCloro Dibenzo-Furani (PCDF), espressi in Equivalenti Tossici Internazionali (TEQ) fissati dall’Organizzazione Mondiale di Sanità (OMS)

Tabella 6 – Tenori massimi consentiti negli alimenti per animali di diossine.
Table 6 –Dioxins maximum allowed levels in feed.

Le diossine vengono ricercate nell’olio di pesce, farina di pesce e mangimi per pesci, mangimi disidratati artificialmente (fieno, ecc.), microelementi (ossido di zinco, ossido di rame, ecc.), minerali.

La ricerca dei PCB viene effettuata sui derivati del pesce, mangimi per pesci, grassi di origine vegetale e animale.

L’esame per la ricerca dei pesticidi clorurati prevede un’estrazione, una fase di purificazione su colonne di silice o allumina e un’analisi strumentale in gas-cromatografia con rivelatore a cattura di elettroni (GC-ECD) o in gas-massa (GC-MS).

Per i PCB e le diossine l’analisi prevede una fase estrattiva seguita da purificazione su colonne di silice o allumina ed analisi con GC-ECD o GC-MS-MS.

MICOTOSSINE

Le micotossine sono metaboliti secondari prodotti da diversi generi fungini (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*) che, in particolari condizioni di temperatura e di umidità, possono essere presenti nei prodotti agrari come conseguenza di una contaminazione in campo, oppure dopo il raccolto. Le derrate alimentari, le granaglie e i mangimi per gli animali rappresentano substrati ideali per l’accrescimento fungino e la sintesi di micotossine. Considerato il sempre maggiore utilizzo dei cereali anche nelle

formulazioni mangimistiche per pesci, le micotossine rappresentano un problema specifico anche nel settore dell'itticoltura. Le micotossine più frequentemente ritrovate nei cereali sono le Aflatossine, l'Ocratossina A, le Fumonisine, lo Zearalenone e il Deossinivalenolo (DON).

Il PNAA prevede la ricerca delle aflatossine B₁, B₂, G₁, G₂, dell'Ocratossina, di Zearalenone, di Deossinivalenolo (DON), delle Fumonisine. Sulla Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea, è stata pubblicata la raccomandazione 2006/576 del 17 agosto 2006 relativa alla presenza di micotossine in prodotti destinati all'alimentazione animale. Dopo il decreto del Ministero della Salute che stabiliva i limiti per l'Ocratossina A (15 maggio 2006), la Comunità ha reso noti i valori limite per tutte le classi di micotossine, stabilendo che il numero di analisi per le micotossine nei mangimi debba essere incrementato e che gli Stati Membri debbano garantire il monitoraggio di tutte le tossine in ogni campione analizzato. I valori di riferimento sono stati determinati su specie animali particolarmente tolleranti, di conseguenza nell'alimentazione di altre specie sarà necessario osservare i valori inferiori.

I valori di riferimento per la ricerca di DON, Zearalenone, Ocratossina A, Fumonisine B₁ e B₂ sono stati fissati per determinare l'accettabilità dei mangimi (Tabella 7) e saranno in vigore dal 1 ottobre 2007.

Raccomandazione del 17/08/2006	
MICOTOSSINA	LIMITI
Aflatossina B ₁	10 ppb nei mangimi completi per pesci (decreto 317/2002)
Fumonisine B ₁ +B ₂	Raccomandazione del 17/08/2006, nei sottoprodotti del granturco e derivati ≤ 60 ppm, mangimi complementari e completi per pesci ≤ 10 ppm
Ocratossina A	Nessun limite nei mangimi Raccomandazione del 17/08/2006 nei cereali ≤ 0,25 ppm, nei sottoprodotti del granturco ≤ 3 ppm
Zearalenone	Nessun limite nei mangimi Raccomandazione del 17/08/2006 nei cereali ≤ 2 ppm, nei sottoprodotti del granturco ≤ 3 ppm
Deossinivalenolo (DON)	Nessun limite nei mangimi Raccomandazione del 17/08/2006 nei cereali ≤ 8 ppm, nei sottoprodotti del granturco ≤ 12 ppm nei mangimi complementari e completi per pesci ≤ 5 ppm

Tabella 7 – Livelli di micotossine per determinare l'accettabilità dei mangimi.
Table 7 – Mycotoxins maximum levels to assess feed compliance.

L'analisi di screening delle micotossine si effettua in ELISA, mentre la conferma è strumentale mediante detector fluorimetrico (HPLC-FL) e cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa (HPLC-MS).

SALMONELLA spp.

I principali pericoli biologici associati al consumo di alimenti derivati dall'acquacoltura sono correlati alla presenza di germi patogeni come *Salmonella* spp.

Le materie prime che vengono sottoposte alla ricerca di questo microrganismo nei mangimi ad uso zootecnico sono cereali (orzo, frumento, granturco), semi oleosi (arachidi, colza, soia, noce di cocco, cotone, lino, ecc.), semi di legumi, tuberi, radici, altri semi e frutti, foraggi e paglia, altre piante.

Il rischio legato alla contaminazione microbica dei mangimi da *Salmonella* è un problema ancora tutto da definire. Il PNAA infatti stabilisce che i campioni siano effettuati solo a scopo conoscitivo in aliquota singola. Naturalmente la valutazione del significato epidemiologico e delle ripercussioni per l'uomo da dare all'eventuale positività, non possono prescindere dalla tipizzazione della *Salmonella*, né dalla matrice, cioè dalla specie animale a cui quel mangime sarebbe stato destinato. In ogni caso, pur tenendo conto di tutte le difficoltà operative nella gestione di questo pericolo, poiché spesso risulta difficile assicurare la qualità igienica delle materie prime impiegate e non esistono meccanismi che assicurino il risanamento della linea di produzione, il PNAA stabilisce i provvedimenti da adottare in caso di positività, prescrivendo le misure di seguito riportate:

- verifica del piano di autocontrollo aziendale e/o delle GMP (buone pratiche di fabbricazione), con eventuale adozione di azioni correttive volte a risanare l'impianto di lavorazione e ad evitare contaminazioni sulla filiera;
- intensificazione delle analisi di laboratorio per ricerca di *Salmonella* spp. da eseguire nell'ambito del programma di autocontrollo;
- attuazione di idonee procedure di risanamento (se possibili), nel caso in cui la positività sia stata riscontrata sulle materie prime; applicazione delle regole e dei controlli per l'eventuale eliminazione e trasformazione dei rifiuti di origine animale;
- mantenimento di registri dei controlli relativi alle misure di controllo dei rischi.

E' necessario che il produttore si attivi e che il regime di autocontrollo preveda opportune periodiche e frequenti determinazioni analitiche per ricerca di *Salmonella* spp. sia sulle materie prime, sia sui prodotti finiti.

I metodi disponibili per la determinazione di *Salmonella* spp. nei mangimi sono prevalentemente di tipo microbiologico colturale: metodo normato ISO 6579:2002, prove biochimiche, prove sierologiche (AgO), metodo AFNOR V08-052 (1997), metodo AFNOR BIO12/10-09/02, Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA).

ORGANISMI GENETICAMENTE MODIFICATI

L'ultimo capitolo del PNAA prevede la ricerca di organismi geneticamente modificati (OGM) in alimenti zootecnici per l'acquacoltura. Il Regolamento CE 1829/2003 FOOD & FEED, nell'art. 1 definisce come obiettivo "fornire la base per garantire un elevato livello di tutela della vita e della salute umana, della salute e del benessere degli animali, dell'ambiente e degli interessi dei consumatori in relazione agli alimenti e mangimi geneticamente modificati, garantendo nel frattempo l'efficace funzionamento del mercato interno".

Questo regolamento, entrato in vigore dal 19/04/2004, disciplina per la prima volta l'impiego di OGM nella preparazione degli alimenti ad uso zootecnico. Le aziende alimentari devono dunque dimostrare di aver preso opportune misure per evitare la contaminazione con semi geneticamente modificati o prodotti da essi derivati. Qualora nel prodotto alimentare la percentuale di ingrediente derivante da modificazione genetica superi lo 0,9% dell'ingrediente stesso (soglia minima fissata per le eventuali contaminazioni accidentali) l'etichettatura è obbligatoria.

La soglia è valida solo per gli OGM autorizzati. Per tutti gli altri la tolleranza è stata fissata allo 0,5%.

I mais transgenici attualmente autorizzati sono Bt11, BT176, T25 (Liberty Link), MON810 (Yeald Gard), MON809, MON863, NK 603, GA 21, Granturco 1507. Riguardo la soia, che viene usata in combinazione col mais per arricchire il mangime in tenore proteico, è stato autorizzato l'utilizzo di soia RoundUp Ready (RRS).

Il Regolamento CE 1830/2003 è entrato in vigore il 15/04/2004 per disciplinare la rintracciabilità degli alimenti e mangimi contenenti OGM e loro derivati. In esso vengono definiti più puntualmente i requisiti per l'attuazione, in particolare l'obbligo di trasmettere e conservare le informazioni più importanti dei prodotti in tutte le fasi della loro immissione in commercio, dalla produzione alla distribuzione partendo dalla coltivazione. Il corretto flusso di informazione lungo la filiera è necessario ai fini di un'accurata etichettatura, del monitoraggio, degli effetti sull'ambiente e per la gestione del rischio. Per quanto riguarda la prevenzione del rischio di contaminazione da OGM nel settore biologico, gli operatori che producono, preparano o importano i prodotti che riportano indicazioni relative al metodo di produzione biologico devono assoggettare la loro azienda al regime di controllo definito nel regolamento su ricordato. Gli organismi deputati al controllo e alla certificazione devono infatti verificare che il processo produttivo sia esente da OGM; le sementi, mangimi e ingredienti (materie prime) che rientrano nel processo produttivo devono essere quindi certificati OGM free.

Il compito del laboratorio analitico nell'ambito dei controlli ufficiali consiste nell'individuazione della presenza di soia e mais geneticamente modificati e, in caso di positività, nel determinare la specificità della linea transgenica e in seguito la quantità (in %) di componente GM.

Tutto ciò è possibile grazie ad un'analisi genotipica che consiste nel riconoscimento della sequenza genomica esogena inserita, mediante PCR (Polymerase Chain Reaction) qualitativa e/o quantitativa. L'analisi in PCR qualitativa si effettua con uno screening per la presenza di 35s e Nos (promotore-terminatore), tratti di DNA esogeni inseriti nel DNA nativo, comuni a tutti gli OGM. In caso di positività il passo successivo è rappresentato dal riconoscimento del GMO, cioè dalla determinazione della Soia Roundup Ready (RRS) e della determinazione dei vari tipi di mais. A seguire, viene effettuata l'analisi quantitativa in PCR (Real Time), che consente di determinare la percentuale di GM sul gene nativo.

CONCLUSIONI

Nel settore dei prodotti ittici, provenienti da allevamenti o dalla pesca tradizionale, si assiste sempre più ad un contesto concorrenziale tra i prodotti nazionali e quelli provenienti da mercati dell'U.E. o extra U.E., soprattutto da Paesi del bacino del Mediterraneo. Le aumentate esigenze in termini di sicurezza alimentare, caratteristiche nutrizionali e merceologiche, associate alla qualità del prodotto (acquistato o somministrato), devono necessariamente indurre il settore dei controlli ufficiali degli alimenti a adeguamenti e cambiamenti nella conduzione delle verifiche, con conseguente aggiornamento delle attrezzature e tecnologie impiegate, in relazione alle esigenze di mercato e agli standard qualitativi che si vogliono raggiungere.

La sicurezza degli alimenti dipende da diversi fattori tra loro correlati (corretto svolgimento di tutte le fasi lungo la filiera produttiva, modalità e tipologie di verifica aziendale, trasparenza dei dati, ecc.) e i controlli sanitari devono essere effettuati in tutte le fasi della produzione. Ne consegue che una politica tesa a tutelare la salute del consumatore, deve necessariamente prendere in considerazione l'intera filiera, mediante l'attuazione e la pianificazione di controlli mirati.

Da evidenziare la potenziale collaborazione tra laboratori ufficiali e laboratori per l'autocontrollo, auspicabile al fine di uno studio epidemiologico e una corretta valutazione del rischio. La valutazione epidemiologica del rischio, infatti, richiede grandi numeri sulle diverse tipologie di produzione, dati che possono esser espressi solo nell'ambito delle analisi effettuate in autocontrollo, con la collaborazione e la supervisione tecnica scientifica dei laboratori pubblici ufficiali accreditati. Ciò consentirebbe di operare nel senso della prevenzione e dell'educazione igienico-sanitaria per garantire la sicurezza del consumatore, collaborando con i produttori per migliorare la qualità e la salubrità delle produzioni alimentari ed intervenendo in forma repressiva solamente laddove esistano effettivamente comportamenti a rischio per la salute pubblica.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il Prof. Ing. Andrea Abete per l'accurata revisione del lavoro.

BIBLIOGRAFIA

Decisione del Consiglio 2000/766/CE del 4 dicembre 2000 relativa a talune misure di protezione nei confronti delle encefalopatie spongiformi trasmissibili e la somministrazione di proteine animali nell'alimentazione degli animali. *Gazzetta Ufficiale C.E. n. L 306/32 del 07/12/2000.*

Decisione della Commissione 2001/9/CE in merito a misure di controllo necessarie per l'attuazione della decisione 2000/766/CE del Consiglio concernente certe misure di protezione relative alle encefalopatie spongiformi trasmissibili e alla somministrazione di proteine animali. *Gazzetta Ufficiale C.E. n. L 2/32 del 05/01/2001.*

Decisione della Commissione 2001/165/CE del 27 febbraio 2001 che modifica per quanto riguarda le proteine idrolizzate la decisione 2001/9/CE riguardante misure di controllo necessarie per l'attuazione della decisione 2000/766/CE del Consiglio concernente talune misure di protezione relative alle encefalopatie spongiformi trasmissibili e alla somministrazione di proteine animali. *Gazzetta Ufficiale C.E. n. L 58/43 del 28/02/2001.*

Decreto 9 settembre 2004 Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (2004). Metodo analitico per la determinazione dei costituenti di origine animale nell'ambito del controllo ufficiale degli alimenti per animali - supplemento n. 18; recepimento della direttiva 2003/126/CE. *Gazzetta Ufficiale n. 221 del 20/09/2004.*

Decreto Legge 317/2002 stabilisce il limite massimo per Aflatossina B₁ nei mangimi completi per pesci. *Gazzetta Ufficiale 155 del 7/7/2003.*

Decreto legislativo n. 149 del 10 maggio 2004. Attuazione delle direttive 2001/102/CE, 2002/32/CE, 2003/57/CE e 2003/100/CE, relative alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nell'alimentazione degli animali. *Gazzetta Ufficiale n. 139 del 16/06/2004.*

Decreto Ministeriale 15 maggio 2006: Determinazione dei limiti di Ocratossina A negli alimenti per animali. *Gazzetta Ufficiale n. 120 del 25/05/2004.*

Direttiva 2003/100/CE della commissione del 31 ottobre 2003 che modifica l'allegati I della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio relativa alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione animale. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 285/33 del 01/11/2003.*

Direttiva 2003/126/CE della Commissione, del 23 dicembre 2003, che stabilisce il metodo analitico per la determinazione dei costituenti di origine animale nell'ambito del controllo ufficiale degli alimenti per animali. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 339 del 24/12/2003.*

Direttiva 2006/77/CE della Commissione del 29 settembre 2006, che modifica l'allegato I della direttiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio riguardo ai livelli massimi dei composti organoclorurati nell'alimentazione animale. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 271 del 30/09/2006.*

Raccomandazione 2006/576/CE del 17/08/2006 sulla presenza di deossinivalenolo, zearalenone, ocratossina A, tossine T-2 e HT-2 e fumonisine in prodotti destinati all'alimentazione degli animali. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 229 del 23 agosto 2006.*

Regolamento CE 2377/1990 del Consiglio del 26 giugno 1990 che definisce la procedura comunitaria per la determinazione dei limiti massimi di residui di medicinali veterinari negli alimenti di origine animale. *Gazzetta Ufficiale n. L 224 del 18/08/1990.*

Regolamento CE 466/2001 della Commissione dell'8 marzo 2001 che definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle derrate alimentari. *Gazzetta Ufficiale C.E. n. L 77/1 del 16/03/2001.*

Regolamento CE 999/2001 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 22 maggio 2001 recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili. *Gazzetta Ufficiale C.E. n. L 147 del 22/05/2001.*

Regolamento CE 1334/2003 della Commissione, che modifica le condizioni per l'autorizzazione di una serie di additivi appartenenti al gruppo degli oligoelementi nell'alimentazione degli animali. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 187 del 26/07/2003.*

Regolamento CE 1829/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 22 settembre 2003, relativo agli alimenti e ai mangimi geneticamente modificati. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 268 del 18/10 2003.*

Regolamento CE 1830/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 22 settembre 2003, concernente la tracciabilità e l'etichettatura di organismi geneticamente modificati e la tracciabilità di alimenti e mangimi ottenuti da organismi geneticamente modificati, nonché recante modifica della direttiva 2001/18/CE. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 268 del 18/10 2003.*

Regolamento CE 1831/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 22 settembre 2003, sugli additivi destinati all'alimentazione animale. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 268 del 18/10/2003.*

Regolamento CE 1292/2005 della Commissione del 5 agosto 2005 recante modifica dell'allegato IV del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo del Consiglio per quanto riguarda l'alimentazione degli animali. *Gazzetta Ufficiale U.E. n. L 205/3 del 06/08/2005.*