

Anno 11, numero 3 - quadrimestrale - dicembre 2014

VETERINARY &

food

Periodico d'informazione della Associazione Italiana Veterinaria di Medicina Pubblica

 **AIVEMP**
ASSOCIAZIONE FEDERATA ANMVI



EFSA. Parere scientifico sul mantenimento della catena del freddo

Nuove etichette alimentari: i cambiamenti principali

Piretroidi in campioni di alimenti di origine animale

MODALITÀ DI ISCRIZIONE

1) On line tramite il sito <http://registration.aivemp.it/>

OPPURE

2) Mediante il seguente modulo da inviare (scegliere una sola modalità):
per posta o per Fax 0372/40.35.40 o per E-mail
(dettagli indicati in basso nella seconda pagina)

- Compila TUTTI i campi
- Scrivi in STAMPATELLO
- Per comunicare variazioni ai tuoi dati, spunta la casella VARIATO e indica i nuovi dati nella colonna di destra
- Assegni e ricevute di bonifico o di versamento su CCP inviate senza la presente scheda NON saranno prese in considerazione

COGNOME

NOME

TESSERA AIVEMP NUMERO

SEI STATO ISCRITTO NEL 2014? Sì No

DATI FISCALI

CODICE FISCALE
Obbligatorio ai fini E.C.M.

PARTITA I.V.A.

VARIATO NUOVO DATO

RECAPITO PRIVATO

INDIRIZZO

CAP / COMUNE / PROV

NAZIONE

TELEFONO

FAX

CELLULARE

E-MAIL

VARIATO NUOVO DATO

RECAPITO PROFESSIONALE (DATO OBBLIGATORIO SE ESISTENTE)

DENOM. STRUTTURA

DIPARTIMENTO

INDIRIZZO

CAP / COMUNE / PROV

NAZIONE

TELEFONO

FAX

CELLULARE

E-MAIL

VARIATO NUOVO DATO

RECAPITO DA UTILIZZARE PER LA CORRISPONDENZA

ATTUALE PRIVATO PROFESSIONALE

VARIATO PRIVATO PROFESSIONALE

SETTORE DI PRINCIPALE OCCUPAZIONE/INTERESSE

Indica in percentuale l'attività dedicata a ciascun settore

SANITÀ ANIMALE %

IGIENE ALIMENTI %

IGIENE ZOOTECNICA %

TIPOLOGIA DI IMPIEGO

ALTRO

OPERATORE NON VETERINARIO

DIPENDENTE PRIVATO

STUDENTE

DIPENDENTE PUBBLICO

LIBERO PROFESSIONISTA

DICHIARO DI ESSERE

- LAUREATO IN MEDICINA VETERINARIA NELL'ANNO , CITTADINO ITALIANO ISCRITTO ALL'ORDINE DEI VETERINARI DI
- DALL'ANNO N° ISCRIZIONE ALL'ORDINE
- STUDENTE IN MEDICINA VETERINARIA (allegare certificato di iscrizione dell'anno in corso rilasciato dalla segreteria di facoltà)
- VETERINARIO DI ALTRA NAZIONALITÀ OPERATORE NON VETERINARIO

SEMPLICE PER LORO, DIFFICILE PER NOI

Bartolomeo Griglio*Presidente AIVEMP*

Le competenze dell'area di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza alimentare rientrano a pieno titolo nelle attività della Pubblica Amministrazione. I Servizi Veterinari delle Regioni e delle ASL sono pertanto chiamati, oltretutto a conoscere le norme specifiche della disciplina, anche ad ottemperare agli obblighi previsti per gli Enti Pubblici. Obblighi che negli ultimi anni sono stati oggetto di numerosi interventi legislativi che risultano in molti casi di difficile interpretazione ed applicazione.

Prendiamo, ad esempio, la programmazione dei controlli ufficiali: oltre alle indicazioni previste dai Regolamenti Europei, le Autorità Competenti per la sicurezza alimentare devono conformare le proprie attività a varie normative nazionali che dal 2012 hanno introdotto numerose innovazioni nei campi dell'anticorruzione, della semplificazione dei controlli, della trasparenza e del sistema sanzionatorio.

Prendiamo ad esempio in considerazione le prescrizioni introdotte dalla Legge 4 aprile 2012 n. 35 (conversione in legge del Decreto-Legge 9 febbraio 2012 n. 35) recante: «Disposizioni urgenti in materia di semplificazione e di sviluppo». Tale documento di 322 pagine, oltre alle novità legate alla SCIA ed alla responsabilità sui procedimenti, all'articolo 14 "Semplificazione dei controlli sulle imprese" e nelle relative linee guida (ratificate dalla Conferenza Unificata degli Enti Pubblici nella seduta del 24 gennaio 2013), individua una serie di principi per le Regioni e gli Enti Locali. Alcuni di questi, ad esempio la proporzionalità dei controlli e relativi adempimenti amministrativi, l'eliminazione dei controlli non necessari alla tutela della salute pubblica e il coordinamento tra amministrazioni diverse erano già previsti da altre normative. Altri principi risultano sicuramente maggiormente innovativi e di più complessa attuazione. Non è così immediato infatti capire come attuare la razionalizzazione dei controlli sulle imprese, anche mediante la riduzione o eliminazione degli stessi, tenendo conto del possesso di certificazione del sistema di gestione per la qualità ISO oppure in che modo e con quali risorse istituzionalizzare una collaborazione con i soggetti controllati al fine di prevenire rischi e situazioni di irregolarità, anche mediante la pubblicazione sul sito dell'amministrazione e sul sito www.impresainungiorno.gov.it la lista dei controlli a cui sono assoggettate le imprese in ragione della dimensione e del settore di attività, indicando per ciascuno di essi i criteri e le modalità di svolgimento delle relative attività. Tra l'altro l'obbligo di pubblicazione è previsto anche dall'articolo 25 "Obblighi di pubblicazione concernenti i controlli sulle imprese", del Decreto Legislativo 14 marzo 2013 n. 33 "Riordino della disciplina riguardante gli obblighi di pubblicità, trasparenza e diffusione di informazioni da parte delle pubbliche amministrazioni".

Si tratta di adempimenti complessi che richiedono, per raggiungere le finalità per le quali sono stati proposti, un forte coordinamento centrale che al momento non è stato svolto con conseguente inerzia delle amministrazioni periferiche o lo sviluppo di iniziative locali, finalizzate prioritariamente ad evitare omissioni più che a ottenere un reale impatto positivo sul sistema.

La possibilità di incorrere in omissioni è quanto rischia di avvenire per la mancata applicazione della previsione di cui all'arti-

colo 1, commi 3 e 4 del Decreto-Legge 24 giugno 2014 n. 91 (Campo libero) convertito con Legge 11 agosto 2014 n. 116 che prevede, in presenza di illeciti amministrativi, l'applicazione dell'istituto della diffida con possibilità, in presenza di alcuni requisiti, di poter adempiere alle prescrizioni entro 20 giorni senza il pagamento della sanzione o il pagamento di una sanzione ridotta del 30% in caso di oblazione entro 5 giorni. Si tratta di modalità operative in vigore dal mese di agosto, già applicate alle imprese in alcune parti del Paese sulla base di norme regionali, per le quali sono state emanate linee di indirizzo da parte del Ministero dell'Agricoltura, che ne prevede l'applicabilità a tutti i settori dell'agroalimentare, ma non da parte del Ministero della Salute, con conseguenti dubbi e interpretazioni diverse da parte delle autorità competenti per la sicurezza alimentare a livello regionale e di ASL. Questa situazione, oltre a introdurre una disparità di trattamento per le imprese (in una Regione, a fronte dello stesso illecito, posso adempiere senza sanzione o pagare con il 30% di riduzione, in quella limitrofa no), potrebbe anche creare problemi al pubblico ufficiale accertatore che, non applicando una legge che stabilisce dei diritti per il cittadino/imprenditore, rende nullo il procedimento amministrativo.

La complessità delle normative e l'esigenza di una interpretazione univoca sul territorio nazionale riguarda anche le norme specifiche. Un esempio in questo caso è rappresentato dall'entrata in vigore di nuove norme sull'etichettatura per le quali sono state predisposte delle indicazioni operative per le imprese e le associazioni di categoria da parte del Ministero dello Sviluppo Economico mentre le autorità competenti per i controlli non hanno ricevuto alcun indirizzo operativo. Questi esempi evidenziano un quadro complesso nel quale le tematiche sulle quali devono essere svolti e le procedure per i controlli ufficiali sono di competenza di diversi Ministeri che si rivolgono ognuno ai propri interlocutori diretti (Ispettorato Frodi, Associazioni di Categoria, ecc.) rischiando di creare ulteriori complicazioni interpretative nel corso dei controlli ufficiali. È urgente pertanto, anche al fine di ottemperare alle norme comunitarie, prevedere un coordinamento interministeriale, in grado di fornire indicazioni a tutti gli enti chiamati ad applicare una determinata norma che sino ad ora, probabilmente anche a causa della riorganizzazione che ha visto, a partire dal mese di ottobre, il cambiamento dei vertici dei settori del Ministero della Salute chiamati a presidiare le tematiche della Sanità Pubblica Veterinaria e della Sicurezza Alimentare con i relativi tempi necessari a conoscere nuove le materie di competenza, è mancato.

Una opportunità potrebbe essere quella di utilizzare il Comitato Nazionale di Sicurezza Alimentare che, nella sezione consultiva, vede la presenza dei rappresentanti di tutti i Ministeri interessati e potrebbe quindi produrre utili indicazioni condivise. L'AIVEMP conferma il proprio impegno nel proporre interpretazioni operative e scientifiche e la disponibilità a collaborare con i nuovi Direttori a cui augura un proficuo lavoro.

Un Augurio per un Felice e Produttivo 2015 anche a tutti i colleghi.



Quadrimestrale d'informazione
della Associazione Italiana Veterinaria
di Medicina Pubblica

**Anno 11, Numero 3
Dicembre 2014**

Supplemento della rivista
"La Professione Veterinaria"
Anno 11, n. 40
settimana
dall'8 al 14 dicembre 2014

Direttore
Bartolomeo Griglio

Vice Direttori
Giancarlo Belluzzi
Giuseppe Licita

Direttore Responsabile
Antonio Manfredi

Segreteria di Redazione
Paola Orioli - Lara Zava
Tel. 0372/403539
segreteria@aivemp.it

Comitato di Redazione
Aldo Benevelli, Liliana Carlomagno,
Anna Cerrone, Elisa Dordoni,
Carlotta Ferroni, Paola Gherardi,
Bartolomeo Griglio, Marina Perri

**Concessionaria esclusiva
per la pubblicità**
E.V. Soc. cons. a r.l. - Cremona
lara.zava@evsrl.it

Spedizione
Spedizione in A.P. - D.L. 353/2003
(conv. in L. 27/02/2004 N. 46)
art. 1, comma 1, DCB Milano
a cura di Centro Produzione Mailings Scarl
Cusago (MI)

Stampa
Press Point - Abbiategrosso (MI)
Tel. 02/94965467

Editore
SCIVAC - Via Trecchi, 20 - Cremona - Iscrizione registro stampa
del tribunale di Vigevano n. 1425/03 del 30/12/2003

S O M M A R I O

**EFSA. Parere scientifico sui rischi per la salute pubblica
legati al mantenimento della catena del freddo durante
lo stoccaggio e il trasporto di carne.**

Parte 1 (carni di ungulati domestici)

Parte 2 (carni macinate di tutte le specie animali)

Silvia Marro, Bartolomeo Griglio

5

**Nuove etichette alimentari: i cambiamenti principali
che sono stati introdotti nella presentazione degli alimenti
dal 13 dicembre 2014**

Bartolomeo Griglio

10

**Monitoraggio di Piretroidi in campioni di alimenti
di origine animale mediante GC/MS/MS**

Valeria Nardelli, Anna Calitri, Francesco Casamassima, Daniela dell'Oro,
Giuseppe Gesualdo, Marco Iammarino, Paolo Mambelli, Domenico Praino

12



Con il patrocinio
dell'Ordine dei Medici Veterinari della provincia di Catanzaro

Organizzano

**COSA CAMBIA SULL'ETICHETTATURA DEGLI ALIMENTI,
CON L'ENTRATA IN VIGORE DEL REG. U.E. N° 1169/2011**

13 Febbraio 2015 - Grand Hotel Lamezia - Lamezia Terme (Cz)

Segreteria Organizzativa: tel. 0967/91605, badraf66@gmail.com - Evento in fase di accreditamento

*Istruzioni per gli autori***CONTRIBUTI**

La rivista *Veterinary&food* pubblica testi su temi inerenti i due argomenti che ne definiscono la testata.

Le sezioni della rivista comprendono editoriali, articoli originali, interventi, inchieste, notizie, rassegne, recensioni, lettere alla rivista e rubriche.

VALUTAZIONE

Tutti i lavori ritenuti conformi alle linee guida sopradescritte verranno sottoposti al giudizio di lettori esperti per una valutazione dell'interesse pratico e della validità scientifica. I pareri saranno riassunti in una scheda di lettura inviata all'autore per la corrispondenza, tramite la quale potranno essere richieste precisazioni o modifiche, la redazione si riserva comunque il diritto di accettare o meno un lavoro e di decidere l'eventuale data di pubblicazione.

INVIO

Il contributo deve essere inviato esclusivamente in formato elettronico con file di testo in Microsoft Word (esclusivamente Windows) e immagini di buona qualità, nei formati JPEG, GIF, EPS e TIFF.

Il materiale deve essere inviato esclusivamente mezzo mail al seguente indirizzo: segreteria@aivemp.it

**ISTRUZIONI COMPLETE PER GLI AUTORI
DISPONIBILI AL SITO WWW.AIVEMP.IT**

INFORMAZIONI

Segreteria di Redazione - Paola Orioli

Tel. 0372 - 403539, segreteria@aivemp.it

EFSA. PARERE SCIENTIFICO SUI RISCHI PER LA SALUTE PUBBLICA LEGATI AL MANTENIMENTO DELLA CATENA DEL FREDDO DURANTE LO STOCCAGGIO E IL TRASPORTO DI CARNE.

Parte 1 (carni di ungulati domestici)

Parte 2 (carni macinate di tutte le specie animali)

Scientific Opinion on the public health risks related to the maintenance of the cold chain during storage and transport of meat.

Part 1 (meat of domestic ungulates) - Part 2 (minced meat from all species)

Silvia Marro, Bartolomeo Griglio

Ce.I.R.S.A. - ASLTO5 Chieri (TO)

A
B
S
T
R
A
C
T

EFSA published two scientific opinions on the risks to public health associated with the maintenance of the cold chain during storage and transport of meat (beef, pig, lamb) and with the maintenance of the cold chain during storage of fresh meat between slaughter and mincing and transport of minced meat. The maintenance of the cold chain is one of the most important principles and basic requirements of the EU legislation in the field of food hygiene. The outputs suggest it is possible to apply slaughterhouse carcass target temperatures higher than the currently mandated 7°C throughout the carcass (including the core) in combination with different transport durations without obtaining additional bacterial growth. Alternative time-temperature combinations for the storage of fresh meat, between slaughter and mincing, are possible without increasing bacterial pathogen growth. Maximum times for the storage of fresh meat intended for minced meat preparation are provided for different storage temperatures.

INTRODUZIONE

L'EFSA ha espresso due pareri scientifici sulla possibilità di applicare una certa flessibilità nel mantenimento della catena del freddo durante lo stoccaggio, il trasporto e la gestione di alcune tipologie di carni senza aumentare il rischio associato alla crescita di microrganismi patogeni.

Il primo parere scientifico riguarda gli obblighi, previsti dal regolamento CE n. 853/2004 di raggiungere temperature di refrigerazione al cuore della carne di ungulati domestici superiori al limite attuale di 7°C stabilito dal regolamento (CE) n. 853/2004, in combinazione con specifiche durate di trasporto dopo la macellazione. Il secondo parere riguarda l'impatto per la salute pubblica del mantenimento delle temperature nel periodo compreso tra la macellazione, la macinatura ed il trasporto delle carni macinate, tenendo conto degli studi scientifici già pubblicati ed eventuali altri dati scientifici pertinenti. In particolare all'EFSA è stato richiesto di:

- valutare l'impatto del periodo di stoccaggio delle carni fresche destinate alla produzione di carne macinata sul rischio legato alla crescita microbiologica di microrganismi potenzialmente dannosi;

- raccomandare, in relazione a tale rischio, i tempi massimi di stoccaggio delle carni fresche destinate alla produzione di carni macinate.

PROTOCOLLO METODOLOGICO

Il protocollo metodologico adottato dal Panel scientifico dell'EFSA ha previsto una serie di passaggi:

- consultazione della letteratura scientifica e acquisizione di dati bibliografici pubblicati;
- scelta del punto di controllo della temperatura;
- determinazione degli scenari di riferimento per lo studio;
- utilizzo di modelli predittivi di crescita microbiologica.

a. Consultazione della letteratura scientifica e acquisizione di dati bibliografici

Parte 1 (carni di ungulati domestici)

Sono stati individuati i parametri chiave che influenzano la crescita batterica sulle carcasse di ungulati domestici (bovino, suino e ovino) e sono stati individuati gli agenti patogeni da considerare nello studio. Attraverso la consultazione della letteratura scientifica è stato stabilito che i fattori determinanti per la crescita sulla superficie delle carcasse sono temperatura, pH e Aw, come anche la competizione con altri microrganismi. Per quanto riguarda la scelta degli agenti patogeni da valutare nello studio, dato che virus e parassiti non crescono sulla superficie della carne, sono stati identificati quali microrganismi più rilevanti per la salute pubblica *Salmonella* spp. ed *Escherichia coli* vero citotossici (VTEC), seguiti da *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica*, che sono stati inclusi in quanto organismi psicrotrofi.

Parte 2 (carni macinate di tutte le specie animali)

Sono stati raccolti pareri relativi al trasporto di carne che non ha raggiunto la temperatura desiderata al momento dell'uscita dal macello e studi sui rischi per la salute pubblica dei diversi regimi di tempo e temperatura applicati durante il periodo compreso tra la macellazione e la produzione di carni macinate.

Sono stati individuati i parametri chiave che influenzano la crescita batterica nella carne e sono stati definiti gli agenti patogeni più rilevanti in grado di crescere sulla superficie della carne durante il periodo di stoccaggio compreso tra la macellazione e la preparazione della carne macinata.

I patogeni target (*Salmonella* spp., *Escherichia coli* vero citotossici (VTEC), *Listeria monocytogenes* e *Yersinia en-*

terocolitica) sono stati selezionati sulla base della loro presenza in carne rossa o di pollame, e/o della loro capacità di crescere a temperature di refrigerazione. Gli agenti patogeni virali e parassitari non crescono sulla carne fresca e pertanto sono stati esclusi. Sono stati esclusi i *Campylobacter* spp. patogeni per l'uomo, anche se prevalenti su carcasse di pollame, in quanto solitamente non crescono all'esterno del loro ospite e mai a temperature inferiori a 30°C.

b. Scelta del punto di controllo della temperatura **Parte 1 (carni di ungulati domestici)**

Il regolamento (CE) n. 853/2004 impone che le carcasse siano refrigerate immediatamente dopo l'ispezione *post mortem* al fine di garantire una temperatura al cuore non superiore a 7°C per la carne rossa, 4°C per la carne di pollame e 3°C per le frattaglie. Il regolamento non specifica, però, entro quanto tempo deve avvenire la refrigerazione.

Le carcasse di bovino, suino e ovino possono essere raffreddate con metodi di refrigerazione ad aria o spray. Per le carcasse di suino può essere utilizzato anche l'abbattimento termico, dove la rapida diminuzione della temperatura della carcassa non altera la qualità della carne. Il regolamento (CE) n. 853/2004 stabilisce che la temperatura finale dovrebbe essere raggiunta prima del trasporto e mantenersi costante durante tutta questa fase. Tuttavia, la carne può essere sezionata e disossata prima del raffreddamento o dopo un periodo di permanenza in cella, rispettando determinate condizioni. Il limite cogente di temperatura dell'ambiente di lavorazione (12°C) deve essere mantenuto durante il taglio, il disossamento, l'affettatura, la porzionatura, il confezionamento e l'imballaggio delle carni.

Ai fini dello studio dell'EFSA è stato scelto come fattore determinante per la crescita batterica la temperatura sulla superficie della carcassa, e non al cuore, poiché la contaminazione batterica nella maggior parte dei casi si verifica sulla superficie. Anche se *Salmonella* spp. e *Yersinia enterocolitica* possono colonizzare i linfonodi, non esistono prove che suggeriscano una moltiplicazione nel tessuto linfatico durante la refrigerazione della carcassa.

Parte 2 (carni macinate di tutte le specie animali)

La carne macinata di animali diversi dal pollame deve essere preparata entro un periodo massimo di 6 giorni dalla macellazione, ad eccezione di quella contenente carne bovina disossata e messa sottovuoto, la quale può essere preparata fino a 15 giorni dopo la macellazione. Le carni di pollame devono essere refrigerate a temperatura non superiore ai 4°C, il più presto possibile dopo l'ispezione *post-mortem*, e la durata massima di conservazione tra la macellazione e la produzione di carni macinate non deve superare i 3 giorni.

I dati disponibili sulla crescita dei patogeni più rilevanti nei diversi tipi di carne durante la conservazione a temperature diverse sono limitati e non possono essere utilizzati per un approccio sistematico al fine di affrontare i TOR (*Terms Of Reference*). Invece, sono stati usati dei modelli per predire il potenziale di crescita dei microrganismi patogeni sulla superficie della carne durante il periodo di conservazione compreso tra la macellazione e la preparazione di carni macinate con le

condizioni più favorevoli di pH e Aw. Inoltre, è stata assunta essere assente una fase di latenza prima dell'inizio della crescita microbica e non sono stati presi in considerazione l'inattivazione durante la conservazione e la concorrenza di altri microrganismi. Il potenziale di crescita previsto in relazione alle condizioni ideali rappresenta pertanto lo scenario peggiore.

Per valutare l'impatto del tempo di stoccaggio di carni fresche rosse destinate alla produzione di carni macinate sul rischio legato alla crescita microbiologica di microrganismi potenzialmente dannosi, è stato stimato il potenziale di crescita di *Salmonella* spp., *E. coli* VTEC, *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* a 7°C per 5 giorni (scenario di base 1), per 14 giorni (scenario di base 2) e per un periodo prolungato, attraverso l'ausilio di modelli predittivi. Questi parametri sono stati selezionati sulla base della normativa attuale che prevede il mantenimento di una temperatura massima di 7°C e un tempo massimo tra la macellazione e la preparazione di carni macinate di 6 giorni (o 15 giorni nel caso di carne sottovuoto disossata). Tenendo conto del raffreddamento della carcassa, che richiede in media 24 ore, rimangono 5 e 14 giorni di tempo, rispettivamente, per la produzione di carni macinate.

c. Determinazione degli scenari di riferimento per lo studio

Parte 1 (carni di ungulati domestici)

Al fine di stabilire le combinazioni di temperatura massima sulla superficie delle carcasse durante il carico e dei tempi massimi di trasporto, sono stati sviluppati due scenari di base (TOR 1 - *Terms of reference*) che rappresentano la situazione attuale utilizzando i dati di temperatura da macelli commerciali.

Lo scenario di base "medio" rappresenta una situazione in cui le carcasse rimangono nella cella di raffreddamento del macello fino al raggiungimento di una temperatura al cuore di 7°C e successivamente vengono trasportate a una temperatura superficiale costante di 4°C per 48 ore.

Lo scenario di base "peggiore" è stato sviluppato sulla base di profili di temperatura superficiale peggiori (cioè profili di temperatura che possono sostenere una maggiore crescita batterica) ottenuti attraverso il raffreddamento al cuore di 7°C seguito dal trasporto a 7°C per 48 ore.

La crescita di *Salmonella* spp., *E. coli* VTEC, *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* ottenuta in questi scenari di base è stata confrontata successivamente con quella che si otterrebbe se la superficie della carcassa fosse raffreddata a 5-10°C, in combinazione con diversi tempi di trasporto e temperature in superficie di 5-10°C (TOR 2 - *Terms of reference*).

Parte 2 (carni macinate di tutte le specie animali)

Per valutare l'impatto del tempo di conservazione delle carni di pollame sul potenziale di crescita dei microrganismi patogeni, è stata fatta una previsione di crescita di *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* durante la conservazione a 4°C per 3 giorni (scenario di base 3). A tal fine sono stati utilizzati diversi modelli predittivi di crescita microbiologica pubblicati su riviste scientifiche (ComBase; Ross *et al.*, 2003; *Pathogen Modelling Program*; *Seafood Spoilage and Safety Predic-*

tor). Invece, né *Salmonella* spp., né *E. coli* VTEC crescono a queste temperature.

Il fatto che il raffreddamento delle carcasse di pollame richieda solamente 2 ore circa, non riduce in modo significativo il tempo di conservazione di 3 giorni.

d. Utilizzo di modelli predittivi di crescita microbiologica

Parte 1 (carni di ungulati domestici)

Per valutare i diversi scenari di refrigerazione, è stata stimata la crescita di *Salmonella* spp., *E. coli* VTEC, *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* sulla superficie della carne durante il raffreddamento utilizzando modelli predittivi di crescita microbiologica pubblicati su diverse riviste scientifiche (ComBase; Ross *et al.*, 2003). Per le variabili del modello sono stati utilizzati valori fissi, ad esempio pH e A_w , ed è stata assunta essere assente una fase di latenza prima che la crescita iniziasse ($N_0 = 0 \log \text{ ufc/cm}^2$ e $N_{\text{max}} = 8 \log \text{ ufc/cm}^2$). In Figura 1 viene mostrata una panoramica dello studio effettuato.

L'approccio adottato è stato quello di valutare e confrontare differenti curve tempo-temperatura di raffreddamento in superficie (che rappresentano lo scenario corrente, lo scenario di base o scenari alternativi di raffreddamento), in termini di potenziale crescita batterica stimata durante la refrigerazione.

I dati sulla distribuzione delle temperature superficiali iniziali (media, minima o massima), i tempi di congelamento e le temperature finali sono stati estratti da articoli scientifici e adattati su distribuzioni di probabilità utilizzando il programma @Risk Best fit, versione 6.1.2 (Palisade Corporation, 2013). La distribuzione con il migliore adattamento ai dati di tempo/temperatura è stata selezionata in base allo scarto quadratico medio. Per modellare la crescita di *Salmonella* spp., *E. coli* VTEC, *L. monocytogenes* e/o *Y. enterocolitica* è stato sviluppato uno scenario di base per ogni specie animale

(bovini, suini e ovini). In base alle disposizioni della legislazione attuale, ogni scenario di base comprende due fasi: refrigerazione presso il macello e refrigerazione durante il trasporto.

Lo scenario di base serve per rappresentare una situazione in cui le carcasse rimangono nella cella frigorifera fino al raggiungimento di una temperatura interna di 7°C e successivamente vengono trasportate con una temperatura superficiale costante. Il tempo necessario per raggiungere la temperatura interna di 7°C è stato stimato sulla base dei dati pubblicati e confrontato con i dati di settore.

La prima fase dello scenario di base è stata descritta con una funzione di decadimento esponenziale sviluppata attraverso parametri di adattamento ai dati simulati che rappresentano la temperatura superficiale rispetto alla durata prevista per raggiungere 7°C al cuore.

Nella seconda fase dello scenario di base si presume che le carcasse vengano trasportate a una temperatura superficiale di 7°C o 4°C. Queste sono le temperature superficiali compatibili durante il trasporto nello "scenario peggiore" e "scenario medio," che corrispondono al limite legislativo della temperatura al cuore. Gli approcci adottati per sviluppare gli scenari di riferimento per le diverse specie animali sono stati leggermente diversi a causa del tipo e della quantità di dati di input disponibili.

Parte 2 (carni macinate di tutte le specie animali)

Al fine di raccomandare i tempi massimi di stoccaggio delle carni fresche destinate alla produzione di carni macinate, il potenziale di crescita dei patogeni è stato valutato utilizzando diversi scenari di tempo-temperatura. Questi sono stati confrontati con quelli ottenuti utilizzando gli scenari di base 1 e 2 (carne rosa) e lo scenario di riferimento 3 (carne di pollame).

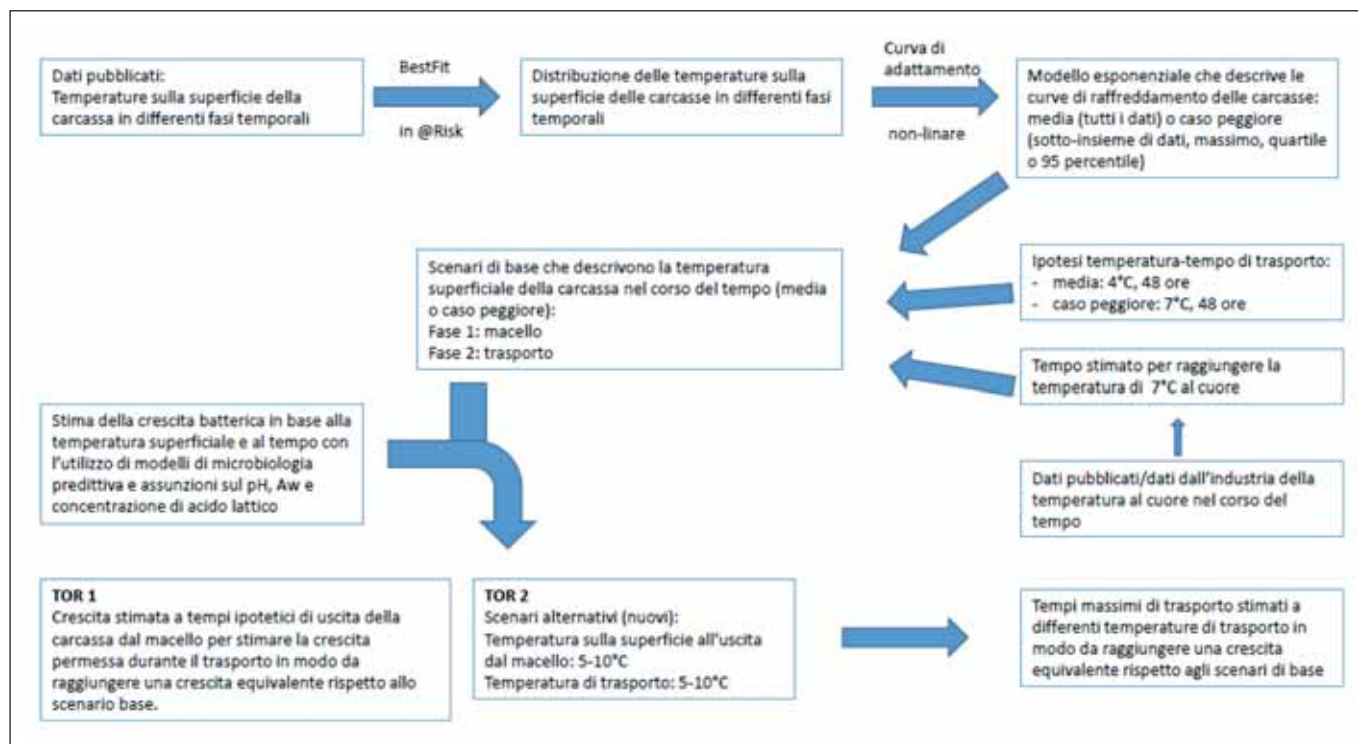


Figura 1 - Panoramica dell'approccio utilizzato (EFSA - carni ungulati domestici).

Sono state impiegate combinazioni di giorni aggiuntivi a temperature comprese tra 1°C e 6°C e quelle che hanno determinato un potenziale di crescita equivalente a quello ottenuto con gli scenari di base pertinenti sono state considerate per rappresentare il rischio equivalente.

I quattro patogeni considerati riescono a crescere alla temperatura massima di 7°C attualmente indicata per la conservazione della carne rossa. Per *Salmonella* spp. ed *E. coli* VTEC è stato stimato dopo 5 giorni un potenziale di crescita, rispettivamente, fino a 1,92 e 3,10 log₁₀ ufc/cm², mentre nello stesso periodo di tempo è stato previsto per *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica*, rispettivamente, un potenziale di crescita fino a 5,81 e 6,18 log₁₀ ufc/cm².

Per le carni di pollame conservate a 4°C, è stata stimata la crescita solo per *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica*, in quanto questa temperatura è inferiore alla temperatura minima di crescita per *Salmonella* e VTEC. Dopo 3 giorni di refrigerazione *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* possono crescere potenzialmente, rispettivamente, fino a 2,1 log₁₀ ufc/cm² e 2,4 log₁₀ ufc/cm².

RISULTATI

Parte 1 (carni di ungulati domestici)

I dati ottenuti consentono di calcolare quelle combinazioni di temperatura superficiale delle carcasse con la durata del trasporto che garantiscono una crescita dei patogeni non superiore a quella ottenuta rispettando i requisiti di raffreddamento attuali (una temperatura interna di 7°C seguita da non più di 48 ore di trasporto). Ad esempio, la refrigerazione delle carcasse bovine ad una temperatura al cuore di 7°C, seguita da trasporto a 4°C per 48 ore può essere sostituita con i seguenti regimi di tempo-temperatura alternativi:

- refrigerazione della carcassa ad una temperatura superficiale di 5°C (10 h) e trasporto a 5°C per 45 ore;
- refrigerazione della carcassa ad una temperatura superficiale di 6°C (9 h) e trasporto a 5°C per 46 ore;
- refrigerazione della carcassa ad una temperatura superficiale di 6°C (9 h) e trasporto a 6°C per 37 ore;
- refrigerazione della carcassa ad una temperatura superficiale di 7°C (8 h) e trasporto a 6°C per 38 ore;
- refrigerazione della carcassa ad una temperatura superficiale di 8°C (7 h) e trasporto a 7°C per 1 ora.

Sono possibili anche altri scenari equivalenti (vedi opinione EFSA).

Parte 2 (carni macinate di tutte le specie animali)

A titolo di esempio, è stato applicato un approccio cautelativo al caso peggiore basato sul modello di combinazione tra patogeno e concentrazione di acido lattico che dà i tempi massimi di conservazione più brevi, con un potenziale di crescita equivalente. Le combinazioni per la conservazione della carne rossa a 1, 2, 3, 4, 5 e 6°C per, rispettivamente, 12, 11, 9, 8, 7 e 6 giorni danno una crescita equivalente a quella che si verificerebbe a 7°C dopo 6 giorni (scenario di base 1).

Nella carne rossa sottovuoto, una crescita equivalente a quella ottenuta a 7°C dopo 15 giorni (scenario di base 2) è stata valutata mediante modellizzazione predittiva dopo 48, 39, 31, 25, 20 e 17 giorni, rispettivamente, a 1, 2, 3, 4, 5 e 6°C.

Per la carne di pollame una crescita equivalente a quella ottenuta a 4°C dopo 3 giorni (scenario di base 3) è stata ottenuta dopo 5, 4 e 3 giorni, rispettivamente, a 1, 2 e 3°C.

Nello studio, non è stato considerato l'impatto del deterioramento microbico sui tempi massimi di conservazione.

CONCLUSIONI

I pareri EFSA considerati nel presente lavoro evidenziano, per entrambe le situazioni esaminate, che le temperature indicate nel regolamento (CE) n. 853/2004 possono essere modificate senza un incremento del rischio microbiologico.

Per quanto riguarda la carcassa, rispetto alla temperatura al cuore, la temperatura superficiale risulta essere un parametro più rilevante per l'effetto della refrigerazione sulla crescita batterica, dal momento che la maggior parte delle contaminazioni batteriche si verificano sulla superficie della carne.

Attraverso i modelli di crescita di *Salmonella* spp., *E. coli* (i modelli degli *E. coli* sono stati utilizzati per prevedere la crescita di *E. coli* VTEC verotossigeni), *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* sulla superficie di carcasse bovine e suine, utilizzando ipotetiche curve di raffreddamento, è stato dimostrato che è possibile applicare alla carcassa nello stabilimento di macellazione regimi di raffreddamento efficaci, ma diversi da quelli indicati nel regolamento (CE) n. 853/2004, senza incorrere in un aumento della crescita batterica. Inoltre, non è indispensabile che il raffreddamento si verifichi nello stabilimento di macellazione, in quanto la crescita batterica è legata al mantenimento della catena del freddo dalla macellazione alla ristorazione/refrigerazione domestica. Il trasporto potrebbe quindi essere effettuato prima che la carcassa raggiunga i 7°C al cuore nelle celle del macello, purché la temperatura continui a diminuire durante il trasporto.

Anche per quanto riguarda le carni macinate, sia rosse che di pollame, lo studio evidenzia che, con la diminuzione della temperatura di conservazione, i tempi di conservazione possono essere prolungati pur mantenendo un rischio equivalente.

I risultati di questi studi dovrebbero portare ad una modifica del regolamento CE n. 853/2004 che, al momento, continua a rappresentare il punto di riferimento per le imprese ed il controllo ufficiale.

I risultati di questi studi possono rappresentare ragionevolmente un sistema alternativo di mantenimento della catena del freddo con effetto equivalente, come indicato nel capitolo 5 del regolamento (CE) n. 853/2004, rappresentando un ulteriore punto di riferimento per le imprese ed il controllo ufficiale.

Riferimenti bibliografici

- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). "Scientific Opinion on the public health risks related to the maintenance of the cold chain during storage and transport of meat. Part 1 (meat of domestic ungulates)". EFSA Journal 2014; 12(3):3601.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). "Scientific Opinion on the public health risks related to the maintenance of the cold chain during storage and transport of meat. Part 2 (minced meat from all species)". EFSA Journal 2014; 12(7):3783.

QUESITO

Leggendo l'articolo NEWSLETTER AIVEMP n. 1 del 2011 è riportata come temperatura di conservazione delle carni congelate di tutte le specie -18°C con riferimento all'All. III del Reg. 853/04. Non troviamo riscontro di tale temperatura nell'allegato citato. Il DM 3/2/77 è ancora applicabile?

Rispondono per il Ce.I.R.S.A.:

Massimiliano Bassoli, Bartolomeo Griglio, Alessandro Testa

RISPOSTA

Il Reg. CE 853/04, Allegato III, Sezione V, capitolo III, comma 2, punto "c", "ii", stabilisce che debbano essere congelate ad una **temperatura interna non superiore a -18°C le carni macinate, le preparazioni di carni e le carni disossate meccanicamente**. Queste condizioni di temperatura devono essere mantenute **durante l'immagazzinamento e il trasporto**.

Per le carni che non rientrano nelle categorie sopracitate, non sono previste temperature di congelamento obbligatorie a livello Europeo. Dal punto di vista tecnologico, un processo di congelamento effettuato correttamente dovrebbe essere in grado di portare le carni, al cuore, ad un minimo di -12°C, con una progressione di 2-5 cm/ora (<http://www.fao.org/docrep/004/t0098e/t0098e02.htm>).

A livello nazionale, il DM 3/2/77 ("Regolamento di esecuzione relativo alle varie fasi di conservazione e di commercializzazione delle carni congelate, emanato ai sensi dell'art. 2 del D.L. 17/01/77 n. 3"), norma appartenente ad un **contesto legislativo commerciale** sulla vendita al dettaglio delle carni, è considerata obsoleta. Alcune delle sue parti quali, ad esempio, l'articolo 9, inerente l'obbligo di esporre all'interno e all'esterno degli esercizi di macelleria le insegne o tabelle indicanti le specie di carni vendute, che il Ministero dell'Industria, del Commercio e dell'Artigianato, con la Circolare n. 165 del 31-03-2000, ha considerato superato dalla normativa sull'etichettatura.

Rimane tuttavia teoricamente applicabile quanto previsto dall'articolo 2 "Le carni congelate comunque destinate alla vendita per il consumo debbono provenire esclusivamente da **stabilimenti o da depositi frigoriferi** riconosciuti idonei ed autorizzati a norma delle disposizioni vigenti, presso i quali siano state conservate in impianti adeguati ed **ivi mantenute a temperatura non superiore a -15°C**", obbligo che permane ovviamente **solo per i produttori nazionali**, e l'articolo 9 "Gli esercizi in cui si effettui la vendita di carni congelate in stato di congelazione devono possedere:

- banchi o armadi frigoriferi destinati alla vendita di tali carni con temperatura non superiore a -15°C;
- celle frigorifere per il deposito di tali carni, con temperatura non superiore a -15°C, ove lo richiedano le esigenze commerciali. (III)" in quanto si tratta di indicazioni non in contrasto con la normativa europea.

L'allegato C, del DPR 327/80 che prevede, per il trasporto delle carni congelate, la temperatura di -10° C, risulterebbe invece, sulla base di quanto affermato dalle circolari del Ministero della Salute DGSAN n° 0031146 del 29/10/2009 e DGSAN n° 0033586 del 23/11/2009, superato.

Gli orientamenti prevalenti sono pertanto i seguenti:

- per le **carni macinate, le preparazioni di carne e le carni disossate meccanicamente**, categorie nelle

quali rientrano gran parte dei prodotti congelati commercializzati al dettaglio, le temperature da rispettare sono quelle previste dal Regolamento n. 853/04: -18°C;

- per le **carni non rientranti nelle categorie "carne macinate", "preparazioni di carni" e "carne disossate meccanicamente"** quali mezzene, quarti o pezzature superiori ai 100 g congelate, risulta accettabile, a livello internazionale in assenza di norme cogenti, che non sia superata la temperatura di -12°C sia nelle fasi di conservazione che di trasporto; per i produttori nazionali potrebbe essere considerata vigente, ai sensi del DM 3/2/77 in assenza di diverse indicazioni da parte del Ministero dell'Industria, la temperatura di -15°C per celle, armadi e banchi frigoriferi nelle quali siano conservate **carne congelate in pezzi interi**; in genere si tratta di prodotti destinati a stabilimenti che le utilizzano per ulteriori lavorazioni (es. cosce suine destinate a produrre prosciutti cotti, girelli per la bresaola, mezzene o quarti destinati a successive porzionature, ecc.); si tratta di una situazione presente con una certa frequenza negli stabilimenti che importano carne congelate per successive trasformazioni ma ormai praticamente quasi assente nella vendita al dettaglio.

Nel determinare le temperature di trasporto la responsabilità rimane in capo all'OSA che, per le sue decisioni, dovrà tener conto delle buone pratiche igieniche e tecnologiche e giustificare le scelte nel proprio sistema di autocontrollo; dovrà inoltre riportare le temperature di conservazione e di trasporto in etichetta.

ECONORMA
Sistemi di monitoraggio e telecontrollo della
TEMPERATURA UMIDITA' RELATIVA %

Celle frigorifere, Congelatori,
Magazzini, Trasporti,
Pastorizzazione, ecc.

FT-200/MP

31020 SAN VENDEMIANO - TV - Via Olivera 52
Tel. 0438.409049 info@econorma.com www.econorma.com

NUOVE ETICHETTE ALIMENTARI: I CAMBIAMENTI PRINCIPALI CHE SONO STATI INTRODOTTI NELLA PRESENTAZIONE DEGLI ALIMENTI DAL 13 DICEMBRE 2014

Bartolomeo Griglio

Ce.I.R.S.A. - ASLTO5 Chieri (TO)

Il regolamento (CE) n. 1169/2011, modifica le esistenti disposizioni che disciplinano l'etichettatura degli alimenti nell'Unione Europea al fine di consentire al consumatore di adottare scelte con maggiore consapevolezza ed un impiego più sicuro degli alimenti, garantendo al tempo stesso la libera circolazione degli alimenti.

Il regolamento è entrato in vigore il 12 dicembre 2011 ed è applicabile (ad esclusione degli obblighi inerenti la denominazione delle carni macinate già in vigore dal 1° gennaio 2014), a partire dal 13 dicembre 2014, ad eccezione delle disposizioni relative a:

- indicazioni obbligatorie inerenti il Paese di origine o il luogo di provenienza degli animali (come già avviene per le carni bovine): luogo di allevamento e di macellazione per le carni suine, ovi-caprine e di pollame, applicabili a partire dal prossimo aprile 2015;
- dichiarazione nutrizionale, applicabili a partire dal 13 dicembre 2016.

È in corso la revisione, dal parte del Ministero, del DLgs. n. 109/1992.

Si riportano alcuni dei principali cambiamenti.

Dichiarazione nutrizionale obbligatoria

La dichiarazione nutrizionale diventa obbligatoria dal 13 dicembre 2016 per tutti gli alimenti (artt. 29-35) allegato V, ma le modalità di presentazione risultano già vincolanti per gli alimenti per i quali, su base volontaria, la dichiarazione stessa è già presente.

Allergeni (art. 21 e allegato II)

Ingredienti, coadiuvanti tecnologici (elencati nell'allegato II del regolamento: "sostanze o prodotti che provocano allergie o intolleranze") e additivi alimentari che derivano da queste sostanze o prodotti, devono essere indicati in evidenza, in modo da essere riconoscibili dai consumatori sensibili, nella lista degli ingredienti con il nome specifico della sostanza o del prodotto. Queste sostanze dovranno essere quindi riportate con un carattere grafico che per colore, dimensioni o colore dello sfondo consenta di distinguerle dagli altri ingredienti elencati (es. **Latte** in polvere). Oltre all'evidenziazione grafica degli allergeni, un altro aspetto rilevante è quello dell'obbligatorietà della ripetizione dell'allergene per ogni singolo ingrediente.

In assenza di indicazioni nazionali queste indicazioni si applicano anche agli alimenti non pre-imballati.

Gli OSA che operano nella vendita di alimenti allo stato sfuso o nella ristorazione-somministrazione dovranno pertanto rendere queste informazioni facilmente visibili, chiaramente leggibili ed eventualmente indelebili.

Ciò significa, sulla base delle FAQ pubblicate dalla Commissione Europea, che le informazioni relative alle aller-

gie e intolleranze devono essere fornite per iscritto, mediante inserimento sui menù o con l'esposizione di appositi cartelli, fino a quando lo Stato membro non abbia adottato misure nazionali specifiche, nei ristoranti e nelle mense (http://www.ceirsa.org/fd.php?path=201411/domande_e_risposte_reg1169-2011_it.pdf).

Presentazione e leggibilità delle indicazioni obbligatorie in etichetta (articolo 13)

Le informazioni obbligatorie sugli alimenti di cui all'art. 9(1) dovranno essere facilmente visibili, chiaramente leggibili ed eventualmente indelebili.

Queste informazioni dovranno essere scritte con caratteri più chiari e grandi, con una dimensione di almeno 1,2 mm oppure 0,9 mm nel caso di imballaggi o contenitori la cui superficie maggiore misuri meno di 80 cm².

Le indicazioni che devono comparire nello stesso campo visivo, sono:

- denominazione di vendita,
- quantità e titolo alcolometrico effettivo (se superiore all'1,2%).

Non c'è più l'obbligo di riportare nello stesso campo visivo il TMC. S'intende per "Campo visivo" le superfici di un imballaggio che possono essere lette da un unico angolo visuale.

Sono previste alcune esenzioni:

- superficie maggiore misura meno di 25 cm² - no etichettatura nutrizionale
- superficie maggiore misura meno di 10 cm² - obbligatori sull'imballaggio solo:
 - denominazione
 - allergeni
 - quantità
 - TMC
 - la lista degli ingredienti può essere fornita mediante altri mezzi o messa a disposizione su richiesta del consumatore.

Le informazioni volontarie (ad esempio quelle "salutistiche") dovranno essere posizionate in modo da non occupare lo spazio delle informazioni obbligatorie.

Data di congelamento o di primo congelamento (se il prodotto è stato congelato più di una volta) sull'etichettatura delle carni congelate, preparazioni di carni congelate e prodotti della pesca non trasformati congelati

La data di congelamento o di primo congelamento è obbligatoria solo sull'etichettatura delle carni congelate, preparati di carni congelate e prodotti della pesca non trasformati congelati che sono pre-imballati.

La data di congelamento o la data di primo congelamento è indicata come segue:

- è preceduta dai termini "Congelato il...";

- questi termini sono seguiti dalla data stessa oppure da un riferimento al luogo in cui la data è indicata sull'etichettatura;
- la data è composta dall'indicazione, nell'ordine e in chiaro, del giorno, del mese e dell'anno, ad esempio "Congelato il GG/MM/AAAA".

Nanomateriali - art. 18 (3)

Tutti gli ingredienti presenti sotto forma di nanomateriali devono essere espressamente indicati nell'elenco degli ingredienti con la dicitura "nano" tra parentesi seguita dalla denominazione dell'ingrediente.

In attesa di ulteriori approfondimenti, il Ministero della Salute escluderebbe da tale obbligo gli additivi alimentari, autorizzati all'uso negli alimenti dal reg. (CE) 1333/2008, che non sono intenzionalmente prodotti in forma nanometrica, ma ne hanno le caratteristiche dimensionali (es. derivati del silicio), purché rispettino le specifiche ed i criteri di purezza previsti per la sostanza dal reg. (CE) n. 231/2012.

Nuove diciture obbligatorie complementari per alcune categorie di alimenti specifici (allegato III)

Modifica delle indicazioni di avvertenze supplementari obbligatorie per le bevande ed estensione dell'obbligo, per la caffeina, anche agli alimenti diversi dalle bevande ai quali la caffeina è aggiunta a fini fisiologici: "non raccomandato per i bambini e durante la gravidanza" posizionate nello stesso campo visivo della denominazione dell'alimento, seguita tra parentesi da un riferimento al tenore di caffeina espresso in mg per 100 gr/ml, sono previste ad esempio per bevande contenenti caffeina (ad eccezione di quelle a base di caffè, di tè o di estratto di caffè o di tè la cui denominazione comprende il termine «caffè» o «tè» in una proporzione superiore a 150 mg/l). Anche per gli integratori alimentari, il tenore di caffeina andrà espresso per porzione quale raccomandato per il consumo giornaliero.

Sede dello stabilimento di produzione

Non è più previsto l'obbligo di indicare in etichetta la sede dello stabilimento di produzione, ma esclusiva-

mente quella del responsabile dell'immissione in commercio (produttore, confezionatore o venditore stabilito nella UE).

Indicazione obbligatoria dell'acqua aggiunta in carni, preparazioni di carni, prodotti della pesca non trasformati e ai molluschi bivalvi non trasformati (Allegato VII, punto 1)

Per prodotti e preparazioni a base di carne, sottoforma di tagli (anche da arrosto), fette, porzioni o filetti, che contengono più del 5% del peso del prodotto finito di acqua aggiunta, la denominazione dell'alimento comprende l'indicazione della presenza di acqua aggiunta. Nelle carni, nelle preparazioni a base di carne e prodotti della pesca non trasformati (allegato VII punto 1) viene abrogato il limite del 5% previsto nel Dlgs 109/92 e quindi qualunque aggiunta di acqua andrà dichiarata tra gli ingredienti a meno che la stessa non sia inserita a scopo tecnologico.

Obbligo di indicazione dell'origine vegetale degli oli e grassi vegetali

Va indicata la specie vegetale da cui derivano. È prevista l'indicazione «totalmente o parzialmente idrogenato».

Obbligo di riportare "carne ricomposta" (Allegato VI, punto 7), nei prodotti e preparazioni a base di carne e prodotti della pesca che possono sembrare costituiti da un unico pezzo di carne o pesce

I prodotti e le preparazioni a base di carne, nonché i prodotti della pesca che possono sembrare costituiti da un unico pezzo di carne o di pesce, ma che sono frutto dell'unione di diverse parti attuata grazie ad altri ingredienti tra cui additivi ed enzimi alimentari, oppure mediante sistemi diversi, recano l'indicazione: «carne ricomposta» e «pesce ricomposto»

Budello non commestibile (Allegato VI, parte C)

Dovrà essere indicata espressamente in etichetta, l'eventuale impiego di un budello non commestibile.

MONITORAGGIO DI PIRETROIDI IN CAMPIONI DI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE MEDIANTE GC/MS/MS

Survey of Pyrethroids in food products of animal origin by GC/MS/MS

Valeria Nardelli, Anna Calitri, Francesco Casamassima, Daniela dell'Oro, Giuseppe Gesualdo, Marco Iammarino, Paolo Mambelli, Domenico Praino

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata - Foggia - Italia

A
B
S
T
R
A
C
T

A monitoring study of Pyrethroids was carried out on 71 samples coming from farms of Puglia and Basilicata regions (Italy) in the period between 2012-2014: particularly 17 eggs, 48 adipose tissues and 6 meats were analyzed. Trace contamination was observed only in 1 sample of equine adipose tissue, contaminated by Permethrin.

In this work analyses of 6 Pyrethroids (Phenothrin, Permethrin, Cyfluthrin, Cypermethrin, Deltamethrin, Fenvalerate) in food products of animal origin were performed by an analytical method based on a preliminary liquid-liquid extraction, followed by a clean-up, using solid phase extraction. GC/MS/MS analyses were carried out in the Selected Reaction Monitoring mode. Validation parameters such as specificity, detection capability, decision limit, precision, recovery, stability and ruggedness were determined, resulting in compliance with Decision 2002/657/EC. The analytical method described is simple, accurate, rugged and it is an useful tool in routine and confirmatory analysis of the Pyrethroid pesticides.

RIASSUNTO

Nell'arco temporale che intercorre fra Gennaio 2012 e Giugno 2014 è stato condotto un monitoraggio su 71 campioni di alimenti di origine animale provenienti sia dalla Puglia che dalla Basilicata, al fine di evidenziare l'eventuale presenza di Piretroidi. In particolare sono stati analizzati 17 campioni di uova, 48 di tessuto adiposo e 6 di carni. Solo 1 campione di tessuto adiposo equino è risultato contaminato da Permetrina. In questo studio è stato utilizzato un metodo analitico sviluppato, validato e accreditato, basato su una preliminare estrazione liquido/liquido seguita da una purificazione mediante SPE. L'analisi strumentale, per la determinazione di 6 Piretroidi (Fenotrina, Permetrina, Ciflutrina, Cipermetrina, Fenvalerato e Deltametrina) in alimenti di origine animale, è stata effettuata mediante GC/MS/MS in modalità SRM (Selected Reaction Monitoring) dove per ogni analita sono stati selezionati uno ione precursore e almeno 2 ioni figlio. I parametri di validazione esaminati quali specificità, $CC\alpha$ e $CC\beta$, precisione, recupero, stabilità delle soluzioni standard e robustezza, sono risultati tutti in accordo con quanto indicato nella Decisione 2002/657/CE. Il metodo descritto è semplice, accurato e robusto e rappresenta un utile strumento per le analisi di routine e di conferma dei residui di Piretroidi.

INTRODUZIONE

Le Piretrine (Figura 1) sono un gruppo di sostanze ottenute da piante del genere *Chrysanthemum* (*Pyrethrum*)¹. I Piretroidi, sono esteri sintetici derivanti dal piretro naturale classificati come insetticidi ad ampio spettro d'azione e caratterizzati da potere insettifugo nei confronti di molti insetti^{1,2}. Piretrine e Piretroidi sono commercializzati quasi sempre in associazione tra loro, agiscono esclusivamente per contatto e interferiscono con il normale funzionamento del sistema nervoso degli insetti, alterando la permeabilità delle membrane agli ioni sodio e potassio, agendo in particolare sui gangli e sulle sinapsi¹. La politica europea in materia di alimenti è sempre più orientata verso elevati standard qualitativi necessari a tutelare e promuovere la salute dei consumatori³. Il presente monitoraggio si inserisce fra i temi di ricerca mirati allo studio delle contaminazioni da Piretroidi in alimenti di origine animale quali carni e uova. Per la valutazione dei livelli dei contaminanti è importante effettuare un opportuno campionamento, in termini di numerosità e rappresentatività dei campioni, oltre che disporre di un metodo analitico sensibile e specifico in grado non solo di individuare il superamento dei limiti massimi residuali imposti dalla legge, ma anche di identificare e quantificare bassi livelli di contaminazione³. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di acquisire una migliore conoscenza sullo stato della contaminazione da Piretroidi negli alimenti di diversa tipologia provenienti dalla Puglia e dalla Basilicata e di evidenziare l'importanza del monitoraggio. Il metodo è stato validato secondo la "Linea guida degli II. ZZ. SS per la validazione intra-laboratorio di metodi di prova di conferma per la determinazione delle sostanze di categoria B" in accordo con i parametri di rendimento richiesti dalla Decisione 657/2002/CE^{4,5}.

MATERIALI E METODI

Al fine di poter disporre di campioni omogenei e rappresentativi, nell'arco temporale dal 2012 al 2014 sono stati effettuati, secondo il criterio della casualità, 71 prelievi di alimenti di origine animale di diversa tipologia (carne, tessuto adiposo e uova). I campioni sono stati prelevati in aziende agricole, dislocate in varie località della Regione Puglia e Basilicata, con la collaborazione degli Organismi Competenti e secondo le specifiche indicazioni e modalità previste nel Piano Nazionale Residui (PNR). I Piretroidi oggetto di indagine sono: Fenotrina, Permetrina, Ciflutrina, Cipermetrina, Fenvalerato e Deltametrina a concentrazioni comprese nell'intervallo 0,01-0,100 mg/kg^{6,7}.

Le fasi analitiche di estrazione e purificazione dei campioni sono state sviluppate al fine di valutarne gli

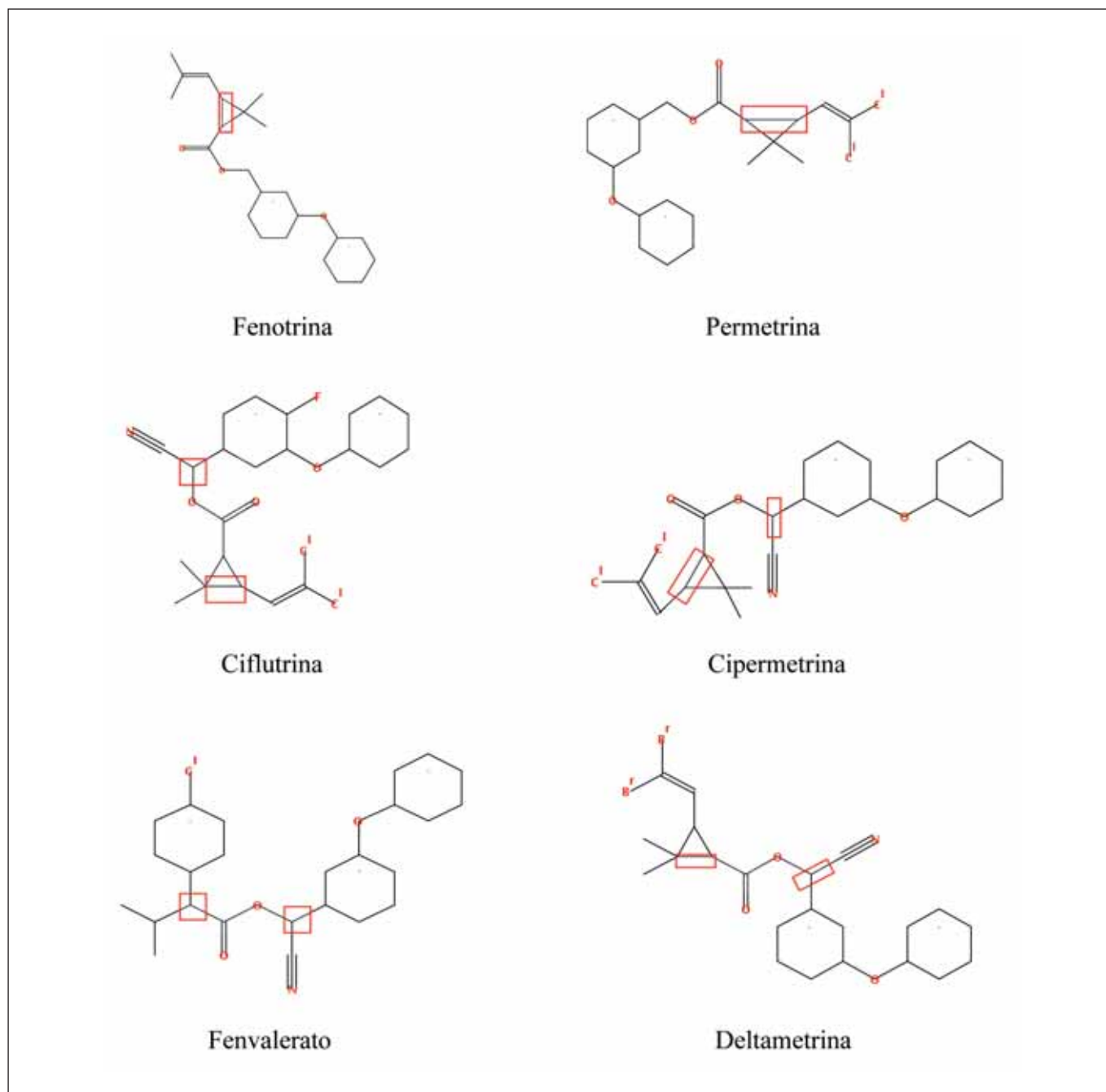


Figura 1 - Struttura dei Piretroidi.

aspetti applicativi più vantaggiosi per le analisi di routine. La procedura di preparazione dei campioni di tessuto adiposo e/o carni è la seguente: si pesano 5 g di campione, a cui si aggiungono 0,2 ml di Fenpropatrina come Standard Interno (SI) alla concentrazione di 500 µg/l e 20 ml di una miscela di esano/acetone (95/5), si centrifuga per 20 minuti a 3500 rpm, si recupera il surnatante e si riduce a piccolo volume (3 ml) in bagnomaria, a 45°C sotto flusso d'azoto. Tale volume si carica su colonnina Chemelut® e si lascia adsorbire per 10 minuti; quindi si eluisce con 15 ml (3 x 5 ml) di una miscela acetonitrile/esano (80/20). Si riduce a piccolo volume (3 ml) in bagnomaria a 45°C sotto flusso d'azoto. Si procede alla purificazione su SPE utilizzando una colonnina di Allumina Basica collegata in serie con una colonnina C18, previamente condizionate con 10 ml di acetonitrile; si carica l'eluato ottenu-

to nella fase estrattiva e si eluisce con 15 ml di acetonitrile; si porta a secco totale in bagnomaria a 45°C sotto flusso di azoto e quindi si riprende con 1 ml di isoottano (fattore di correzione = 0,2) e si inietta in GC/MS/MS⁶.

La procedura di preparazione dei campioni di uova è la seguente: si prelevano 5 g di tuorlo, a cui si aggiungono 40 ml di una miscela di esano/acetone (95/5) e 0,5 ml di PCB 209 come Standard Interno alla concentrazione di 1000 ng/ml e si colloca su agitatore magnetico per 30 minuti; si centrifuga per 20 minuti a 3500 rpm; si recupera il surnatante e si riduce a piccolo volume (3 ml) in bagnomaria a 45°C sotto flusso d'azoto. Si carica su colonnina Extrelut3® tale volume e si lascia adsorbire per 10 minuti; quindi si eluisce con 15 ml (3 x 5 ml) di una miscela acetonitrile/esano (80/20). Si procede alla purificazione su SPE

utilizzando una colonnina C18 condizionata con 10 ml di acetonitrile prima di caricare il campione. Si carica l'eluato ottenuto nella fase estrattiva e si eluisce con 10 ml di acetonitrile. Si porta a secco totale in bagnomaria a 45°C sotto flusso di azoto e quindi si riprende con 1 ml di isoottano (fattore di correzione = 0,2) e si inietta in GC/MS/MS⁷.

L'analisi cromatografica è stata eseguita mediante un Gas Cromatografo modello "Varian 3800 GC", accoppiato ad un rivelatore di massa a triplo quadrupolo modello "Varian 1200", corredato di autocampionatore e di iniettore del tipo PTV, operante in modalità split/splitless secondo la seguente programmata di temperatura: T₁=90°C, Hold Time₁=0,50 min; T₂=300°C rate₁=100°C/min; Hold Time₂ 5,0 min; T₃=220°C rate₂=200°C/min; Hold Time₃=10,0 min. Per la separazione cromatografica è stata utilizzata una colonna capillare Varian Factor Four VF-5ms (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 µm). Si iniettano tre microlitri dell'estratto finale nel sistema cromatografico con la seguente programmata di temperatura del forno: T₁=70°C, Hold Time₁=3,50 min; T₂=220°C rate₁=20°C/min; Hold Time₂=0 min; T₃=300°C rate₂=5°C/min Hold Time₃=3 min; durata della corsa cromatografica=30 min. Il gas di trasporto è l'Elio (99,999%) con un flusso di 1 ml/min. La temperatura della Sorgente è 250°C, della Transferline è 280°C e del Manifold 40°C. Lo spettrometro di massa opera in modalità SRM selezionando i frammenti caratteristici per ogni analita d'interesse.

La validazione del metodo è stata condotta secondo la Linea Guida redatta dagli Istituti Zooprofilattici Sperimentali⁴, valutando quali parametri la precisione, la specificità, la robustezza, CC α e CC β , e la linearità strumentale sia in solvente che in matrice. L'incertezza associata alla concentrazione di ogni singolo Piretroide è stata calcolata con il metodo metrologico.

RISULTATI

Le prove di validazione condotte hanno dimostrato l'efficacia del metodo messo a punto: infatti, mediante l'applicazione dei vari test statistici, il metodo è risultato specifico per le diverse matrici analizzate nonché robusto per tutte le variabili esaminate. I principali parametri di validazione sono riportati nella Tabella 1.

Sono stati analizzati un numero complessivo di 71 campioni di cui 53 prelevati in Puglia e 18 in Basilicata. I campioni di uova di gallina analizzati sono 17 mentre

TABELLA 1
Parametri di validazione



Matrici	Recupero (Range)	CC α (Range)	CC β (Range)
Uova 	82-103%	0,029-0,063 mg/kg	0,034-0,080 mg/kg
Tessuti Adiposi e Carni 	81-99%	0,029-0,063 mg/kg	0,034-0,079 mg/kg




Figura 2 - Ripartizione regionale dei campioni in base alla matrice.

i restanti 54 afferiscono alle carni e tessuto adiposo ripartiti secondo le diverse specie così come riportato in Figura 2.

In tutti i campioni esaminati non è stata rilevata la presenza di Piretroidi, in quanto i valori riscontrati, per ogni singolo analita, sono risultati inferiori ai relativi valori di CC β . Soltanto un campione di tessuto adiposo equino è risultato contaminato da Permetrina con un valore di 1,944 ± 0,142 mg/kg superiore al livello d'azione previsto nel PNR, in base ai Regolamenti (UE) N° 37/2010 e s.m. e N° 396/2005 e s.m.^{8,9}. Infatti i Piretroidi rientrano tra le sostanze incluse nella categoria B dell'allegato I della Direttiva 96/23/CE per le quali è previsto un limite di legge nelle matrici biologiche e nei prodotti di origine animale; nella Tabella 2 sono riassunti i valori di Limite Massimo Residuale (LMR) per analita relativamente alle matrici analizzate.

TABELLA 2
LMR dei singoli analiti

LMR 	Uova di galline	Carni e grasso di bovini, ovini, caprini, equini e conigli	Carni e grasso di galli e tacchini
FENOTRINA	0,05 mg/kg	0,05 mg/kg	0,05 mg/kg
PERMETRINA	0,05 mg/kg	0,05 mg/kg	0,05 mg/kg
CIFLUTRINA	0,02mg/kg	0,05 mg/kg	0,05 mg/kg
CIPERMETRINA	0,05 mg/kg	2,00 mg/kg	0,05 mg/kg
FENVALERATO	0,02 mg/kg	0,05 mg/kg	0,02 mg/kg
DELTAMETRINA	0,05 mg/kg	0,5 mg/kg	0,1 mg/kg

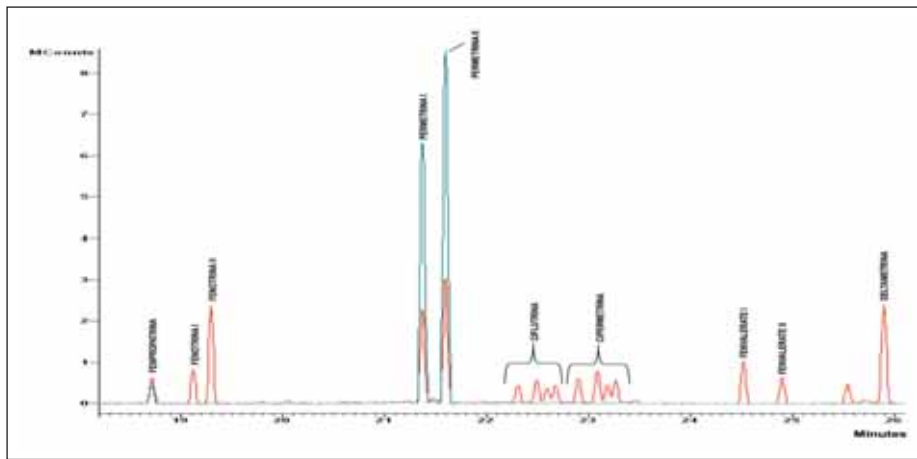


Figura 3 - Overlay del cromatogramma del campione contaminato (azzurro) e della miscela standard di Piretroidi (rosso).

Nella Figura 3 è riportato l'overlay del cromatogramma del campione contaminato e quello della miscela standard di Piretroidi alla concentrazione di 250 ng/ml. L'estratto finale del campione è stato opportunamente diluito in quanto la concentrazione riscontrata di Permetrina è superiore all'intervallo di linearità di risposta.

DISCUSSIONE

I Farmaci veterinari quali Piretrine e Piretroidi sintetici tra i quali la stessa Permetrina spesso vengono utilizzati in maniera impropria facilitando l'insorgere della farmaco-resistenza che determina il ricorso a sempre nuove molecole da parte del Medico Veterinario.

Permetrina e Deltametrina sono Piretroidi di terza generazione ed in particolare la Permetrina è estremamente attiva con un effetto rapido verso un'ampia varietà di artropodi. La sua azione repellente "per contatto" verso i flebotomi richiede un dosaggio particolarmente elevato in modo da neutralizzare l'insetto prima che questo possa trasmettere microrganismi patogeni. Inoltre va evidenziata l'attività topica che si manifesta con depositi nel grasso cutaneo e formazione di una barriera protettiva nei confronti dei diversi insetti. Tale azione protettiva della Permetrina è dovuta all'effetto "anti-feeding", ossia i segni neurologici impediscono all'insetto di alimentarsi. Sul mercato questo principio attivo si ritrova soprattutto in forma microincapsulata, formulazione che ne consente un lento e continuo rilascio nel tempo con una conseguente riduzione della tossicità e potenziamento dell'azione. In commercio esistono numerose formulazioni a base di Permetrina destinate sia al trattamento dei ricoveri zootecnici contro diverse specie di mosche che all'uso esterno sugli animali.

Il Prof. Claudio Genchi, Docente di Malattie Parassitarie presso l'Università degli Studi di Milano, nella prefazione del 10° Volume "Antiparassitari a portata di mano" della Serie "Mappe Parassitologiche"¹ sostiene che per tutti gli animali allevati al pascolo, inclusi i cavalli, il trattamento con i Piretroidi dovrebbe essere mirato al contenimento del parassitismo in relazione alle produzioni e alle performances richieste agli animali. Inoltre precisa che il trattamento deve essere calibrato sulle potenzialità produttive, il tipo di produzione, le

categorie di soggetti più suscettibili responsabili della contaminazione del pascolo, nonché effettuato alle dosi corrette e in base ai dati epidemiologici che caratterizzano le diverse specie di parassiti. Individua fra i vari compiti del Medico Veterinario la capacità di preservare l'efficacia dei presidi medicinali al fine di tutelare la salute animale e pubblica e valuta possibile il raggiungimento di tale obiettivo solo per mezzo di una scelta consapevole fondata sulle conoscenze scientifiche.

Pertanto, sulla base delle suddette considerazioni, riteniamo che tra le possibili ipotesi di contaminazione da Permetrina nel campione

esaminato ci sia stato un improprio trattamento del ricovero dell'animale con conseguente accumulo a livello del tessuto adiposo a causa della manifesta attività topica di tale farmaco antiparassitario.

Se è vero da un lato che i risultati di questo monitoraggio risultano soddisfacenti in quanto si ha un'unica non conformità che non desta preoccupazioni di carattere sanitario, dall'altro lato si sottolinea l'importanza del continuo monitoraggio che consente di avere l'esatta conoscenza dell'andamento nel tempo e sul territorio dei livelli di contaminazione, di rilevare con prontezza possibili situazioni di allarme o di pericolo e di adottare, quindi, le contromisure necessarie alla salvaguardia del consumatore¹⁰.

Bibliografia

1. M. Amorena, C. Genchi, G. Gringoli, V. Musella, A. Santaniello, V. Veneziano "Antiparassitari a portata di mano" 10° volume Serie "Mappe Parassitologiche" Series Editor 2008.
2. F.A. Esteve-Turrillas, C.S. Aman, A. Pastor, M. de la Guardia, Anal Chim. Acta 2004, 522, 73-78.
3. V. Nardelli, D. dell'Oro, F. Casamassima, C. Palermo, D. Centonze "Monitoraggio di Pesticidi Clorurati in campioni di mangimi mediante GC/ECD Tandem" Atti LXII Convegno S.I.S.Vet 24 - 26 Settembre 2008 - San Benedetto del Tronto (AP).
4. Gruppo di lavoro II.ZZ.SS (2008 Rev. 1). "Linea Guida per la validazione intra-laboratorio di metodi di prova di screening in accordo con la Decisione 2002/657/CE".
5. Decisione 657/2002/CE.
6. D. dell'Oro, V. Nardelli, D. Praino, D. Centonze "Determinazione multiresiduale di piretroidi nei prodotti di origine animale: sviluppo e validazione di un metodo di conferma in GC/MS tandem in accordo con la Decisione 657/2002/CE" Atti Congresso XXII Chimica Analitica, 12-16 Settembre 2010, Como.
7. D. dell'Oro, F. Casamassima, G. Gesualdo, M. Iammarino, P. Mambelli & V. Nardelli Determination of pyrethroids in chicken egg samples: development and validation of a confirmatory analytical method by gas chromatography/mass spectrometry. International Journal of Food Science & Technology, 1391-1400 (2013).
8. Regolamento (UE) N° 37/2010 e s.m.
9. Regolamento N° 396/2005 e s.m.
10. V. Nardelli et al.: "Monitoraggio dei livelli di radioattività gamma nel latte vaccino della Puglia da Chernobyl ad oggi" ATTI SISVET LIX Convegno Nazionale Viareggio - 2005.



 **AIVEMP** - ASSOCIAZIONE ITALIANA VETERINARIA DI MEDICINA PUBBLICA

Redazione: Centro Studi EV - Cremona - Tel. +39 (0)372 403539 - segreteria@aivemp.it - www.aivemp.it