

Alma Mater Studiorum Università di Bologna

FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA

Corso di Dottorato in “Metodologie analitiche nella tecnologia alimentare e nell’ispezione degli alimenti di origine animale”, XIX ciclo, VET/04

**Valutazione del rischio di alcuni contaminanti
cancerogeni nel latte alimentare in Italia:
aflatossine e PCB**

Coordinatore
chiar.mo Prof. Roberto Rosmini

Tesi di dottorato
di: Alessandra Canever

Relatore
chiar.mo Prof. Andrea Serraino

Anno accademico 2005/2006

Indice

1. Introduzione.....	pag. 1
2. Le aflatossine.....	pag. 7
2.1 Aflatossina M1 e suo destino nel latte.....	pag. 11
2.2 Metabolismo e tossicità.....	pag. 12
2.3 Cancerogenità.....	pag. 14
2.4 Carry-over.....	pag. 15
2.5 La situazione in Italia nel 2003.....	pag. 17
3. I bifenili policlorurati.....	pag. 19
3.1 Utilizzo e dispersione nell'ambiente.....	pag. 23
3.2 Assorbimento e metabolismo.....	pag. 28
3.3 Tossicità e sintomatologia.....	pag. 30
3.4 Residui negli alimenti.....	pag. 31
4. Valutazione del rischio.....	pag. 36
5. Parte speciale.....	pag. 41
5.1 Questioni per la gestione del rischio.....	pag. 41
5.2 Sviluppo e struttura della valutazione del rischio.....	pag. 42
5.2.1 Qualità dei dati sulla contaminazione del latte...	pag. 44
5.2.2 Metodo di prova per la determinazione di PCB nel latte.....	pag. 43
5.2.3. Metodo di prova per la determinazione dell' aflatossina M1 nel latte.....	pag. 44
5.2.4 Consumi di latte e stima dell'esposizione.....	pag. 48
5.2.5 Caratterizzazione del pericolo.....	pag. 50
5.3 Risultati.....	pag. 53
5.3.1 Aflatossine.....	pag. 53
5.3.2 PCB.....	pag. 56
5.4 Conclusioni.....	pag. 59
Bibliografia.....	pag. 60
Appendice Normativa.....	pag. 67
Allegato I	
Allegato II	

1.Introduzione

I prodotti alimentari non dovrebbero contenere residui di contaminanti chimici superiori ai limiti di sicurezza. I contaminanti chimici che possono essere presenti negli alimenti di origine animale si possono suddividere in tre categorie:

- Contaminanti naturali (es. micotossine)
- Contaminanti ambientali legati all'industrializzazione o all'urbanizzazione (es. diossine e composti simil-diossina)
- Prodotti chimici autorizzati (es. residui di medicinali veterinari)

La contaminazione può avvenire in qualsiasi sistema produttivo, e in qualunque punto del percorso “dalla terra alla tavola”.

Particolare attenzione deve essere posta ai pericoli chimici, al fine di ridurre il più possibile il rischio per gli animali e per il consumatore.

Ai sensi dell'articolo 2, comma 1, lettera a, del Decreto del Presidente della Repubblica n. 54 del 14 gennaio 1997, “si intende per “latte crudo” il latte prodotto mediante secrezione dalla ghiandola mammaria di vacche, pecore, capre o bufale, non sottoposto ad una temperatura superiore a 40° C né ad un trattamento avente effetto equivalente”.

Anche nel recente Regolamento europeo (CE) n. 853/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale, nell'allegato I , al punto 4.1. si legge che, ai fini del Regolamento, si intende per “ «Latte crudo»: il latte prodotto mediante secrezione della ghiandola mammaria di animali di allevamento che non è stato riscaldato a più di 40 °C e non è stato sottoposto ad alcun trattamento avente un effetto equivalente”.

Il latte è un alimento fondamentale nella dieta delle persone e per certe categorie, quali i neonati e i bambini, può rappresentare la principale fonte attraverso cui avviene l'assunzione di residui di sostanze dannose o di contaminanti. Per questo i residui nel latte devono essere strettamente controllati e mantenuti a livelli più bassi possibili.

Molte sono le fonti di contaminazione a cui il latte è esposto: le vacche pascolando possono ingerire dei contaminanti naturalmente presenti nell'ambiente, come il piombo nel terreno, o che si sono depositate sull'erba e che derivano da emissioni industriali, come i bifenili policlorurati, o ancora che sono presenti nel suolo come risultato dell'uso,

negli anni passati, di pesticidi persistenti. Un'altra possibile via di contaminazione è rappresentata dai mangimi destinati agli animali, che possono contenere aflatossine, altre micotossine e metalli pesanti.

Inoltre oggi giorno viene impiegata una grande varietà di medicinali veterinari, inclusi antibiotici e sulfamidici: nel latte possono giungere residui di questi medicinali, così come di antelmintici e altri antiparassitari (Heeschen et al., 1997).

Secondo l'articolo 3, comma 1, lettera c, del DPR n. 54 del 14 gennaio 1997, "il latte crudo può essere destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte o latte alimentare trattato termicamente soltanto a condizione che non superi, relativamente ai residui derivanti dalle sostanze di cui all'articolo 13, comma 4, i livelli di tolleranza ammessi".

L'articolo 13 si riferisce a quel particolare aspetto della gestione aziendale che è rappresentato dall'autocontrollo. In questo articolo, al comma 1 si legge che "il servizio veterinario controlla l'applicazione delle prescrizioni previste dal presente regolamento e l'adozione delle procedure di autocontrollo da applicare in tutte le fasi della fabbricazione e del confezionamento". Al comma 4 si legge ancora: "nel contesto dell'autocontrollo deve essere eseguita periodicamente, secondo le indicazioni e i metodi forniti dall'Istituto superiore di sanità, anche la ricerca dei seguenti residui:

- a) di sostanze ad azione farmacologica;
- b) di sostanze ad azione ormonica;
- c) di sostanze ad azione antibiotica o chemioterapica;
- d) di sostanze ad azione antiparassitaria;
- e) di sostanze detergenti e di altre sostanze nocive tali da alterare le caratteristiche organolettiche del latte o dei prodotti a base di latte o da renderne comunque pericoloso, se non nocivo, il consumo" (DPR n. 54 del 14 gennaio 1997).

Nell'allegato A, capitolo I, dello stesso decreto, si stabilisce che "il latte crudo deve essere escluso dal trattamento, dalla trasformazione, dalla vendita e dal consumo qualora contenga residui di sostanze di cui all'art. 13, comma 4, superiori al livello di tolleranza ammesso"

Nella Direttiva 96/23/CE del Consiglio, del 29 aprile 1996, concernente le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti, citata anche nel Regolamento (CE) n. 853/2004, si legge "La presente direttiva stabilisce le misure di controllo relative alle sostanze e alle categorie di residui di cui all'allegato I." e

più avanti, al capo III (Autocontrollo e corresponsabilità degli operatori) , articolo9, si legge “Gli Stati membri provvedono affinché: (...)

2) i proprietari o i responsabili degli stabilimenti di prima trasformazione di prodotti primari di origine animale adottino - segnatamente mediante misure di autocontrollo - tutte le disposizioni necessarie per:

a) (...)

b) per accertarsi che gli animali d'ingrasso o i prodotti introdotti nello stabilimento:

i) non contengano residui a livelli che superano i limiti massimi autorizzati;

ii) non presentino alcuna traccia di sostanze o prodotti vietati;”

Nell'allegato I di detta direttiva, nella categoria B- Medicinali veterinari e agenti contaminanti, nel gruppo 3) Altre sostanze e agenti contaminanti per l'ambiente, sono elencati:

a) Composti organoclorurati, compresi i PCB

b) Composti organofosforati

c) Elementi chimici

d) Micotossine

e) Coloranti

f) Altri

Nell'allegato II, in cui si indica il tipo di animale o di prodotto in cui tali agenti contaminanti vanno ricercati, per il latte vengono indicate le sostanze 3a, 3b, 3c e 3d.

Il Regolamento (CE) N. 466/2001 dell'8 marzo 2001 definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle derrate alimentari. Questa normativa, tenuto conto anche delle valutazioni del comitato scientifico dell'alimentazione umana (SCF), stabilisce dei livelli massimi di contaminanti anche per il “latte crudo, latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte e latte trattato termicamente”. I contaminanti considerati per il latte sono le aflatossine e i metalli pesanti (piombo).

Nel novembre 2001 la Comunità Europea emana il Regolamento (CE) n. 2375/2001 del Consiglio, del 29 novembre 2001, recante modifica del regolamento (CE) n. 466/2001.

In tale regolamento si legge:

(7) L'SCF ha adottato, in data 30 maggio 2001, un parere sulla valutazione del rischio delle diossine e dei PCB diossina-simili nei prodotti alimentari. Si tratta di un aggiornamento che si fonda su nuove informazioni scientifiche divenute disponibili

successivamente all'adozione da parte dell'SCF di un parere su tale tematica in data 22 novembre 2000. L'SCF ha fissato una dose settimanale tollerabile (TWI - Tolerable Weekly Intake) per le diossine e i PCB diossina-simili pari a 14 pg OMS-TEQ/kg peso corporeo. Le stime concernenti l'esposizione indicano che una notevole proporzione della popolazione comunitaria assume con l'alimentazione una dose superiore alla dose tollerabile. Alcuni gruppi di popolazione in alcuni paesi potrebbero essere esposti ad un rischio più elevato a causa di particolari abitudini alimentari.

(8) Per garantire la tutela dei consumatori è pertanto importante e necessario ridurre l'esposizione dell'uomo alle diossine derivante dal consumo alimentare. Livelli particolarmente elevati di diossina sono stati riscontrati in determinati gruppi di prodotti alimentari. Poiché la contaminazione dei prodotti alimentari è direttamente connessa con la contaminazione dei mangimi, occorre adottare un approccio integrato al fine di ridurre l'incidenza della diossina lungo l'intera catena alimentare, ovvero dalle materie prime per mangimi fino agli esseri umani passando per gli animali da produzione alimentare.

(9) L'SCF ha raccomandato un impegno continuo al fine di limitare ai più bassi livelli possibili le emissioni nell'ambiente delle diossine e dei composti correlati. Questo è il modo più efficace ed efficiente per ridurre la presenza di diossine e sostanze affini nella catena alimentare e garantire una continua riduzione della concentrazione di diossine nel corpo umano. L'SCF ha rilevato che secondo recenti studi sul latte e sul sangue umani sembra che i livelli di diossina non stiano più diminuendo.

(10) I livelli massimi per le diossine e i PCB diossina-simili rappresentano uno strumento efficace per evitare un'esposizione inammissibilmente elevata della popolazione ed impedire la distribuzione di prodotti alimentari caratterizzati da un livello inammissibilmente elevato di contaminazione, ad esempio per via di un inquinamento o di un'esposizione accidentali. È inoltre indispensabile fissare livelli massimi per l'attuazione di un sistema di controllo regolamentare e per garantire un'applicazione uniforme.

(11) Misure basate unicamente sulla definizione di livelli massimi per le diossine e i PCB diossina-simili negli alimenti non sarebbero abbastanza efficaci nel ridurre l'esposizione umana alle diossine, a meno che i livelli non siano fissati a quote tanto basse che una gran parte degli alimenti dovrebbe essere dichiarata inadatta al consumo umano. È generalmente riconosciuto che, ai fini di una riduzione attiva della presenza di diossine

nei prodotti alimentari, i livelli massimi dovrebbero essere accompagnati da misure che stimolino un approccio proattivo, quali la fissazione di livelli di azione e di livelli obiettivo per gli alimenti associata a misure volte a ridurre le emissioni. I livelli obiettivo indicano i livelli di contaminazione da raggiungere onde ridurre, in definitiva, l'esposizione della maggior parte della popolazione al livello della dose settimanale tollerabile (TWI) fissato dall'SCF. I livelli di azione costituiscono uno strumento che consente alle autorità competenti e agli operatori di mettere in luce quei casi relativamente ai quali è opportuno individuare una fonte di contaminazione ed adottare misure di riduzione o eliminazione non solo nel caso di mancato rispetto delle disposizioni del presente regolamento ma anche nel caso in cui vengano riscontrati nei prodotti alimentari livelli significativi di diossine, superiori ai normali livelli di fondo. Tale approccio porterà ad una graduale riduzione dei livelli di diossine nei prodotti alimentari ed in ultima analisi al conseguimento dei livelli obiettivo(..).

(12) Anche se da un punto di vista tossicologico si dovrebbe applicare un livello sia alle diossine, sia ai PCB diossina-simili sia ai furani, per il momento esistono livelli massimi solo per le diossine e i furani e non per i PCB diossina-simili, a causa della disponibilità di dati molto limitati sulla prevalenza di questi ultimi. Tuttavia, il monitoraggio continua, in particolare per quanto riguarda la presenza di PCB diossina-simili, al fine di includere anche queste sostanze nei livelli massimi.

Nel 2006 è stato infine emanato il Regolamento (CE) N. 199/2006 della Commissione del 3 febbraio 2006, che modifica il Regolamento (CE) N. 466/2001 per quanto riguarda le diossine e i PCB diossina simili, anche nella matrice “latte”. In questo testo si legge:

“...Da un punto di vista tossicologico, ogni livello fissato dovrebbe essere applicato sia alle diossine, sia ai PCB diossina-simili, ma nel 2001 si sono stabiliti livelli massimi solo per le diossine e non per i PCB diossina-simili, a causa dei dati molto limitati disponibili all'epoca sulla prevalenza dei PCB diossina-simili. Nel frattempo però si sono resi disponibili più dati sulla presenza dei PCB diossina-simili.

(6) In conformità del regolamento (CE) n. 466/2001, la Commissione doveva riesaminare le disposizioni relative alle diossine alla luce dei nuovi dati sulla presenza di diossine e PCB diossina-simili, in particolare al fine di includere i PCB diossina-simili nei livelli da stabilire.

(7) Tutti gli operatori della catena alimentare umana e animale devono continuare ad adoperarsi al massimo e a fare quanto necessario per limitare la presenza di diossine e PCB nei mangimi e nei prodotti alimentari. Il regolamento (CE) n. 466/2001 stabilisce pertanto che i livelli massimi applicabili siano nuovamente riesaminati entro il 31 dicembre 2006, al fine di ridurre significativamente i livelli massimi ed eventualmente fissare livelli massimi per altri prodotti alimentari. Visto il tempo necessario per ottenere dati di monitoraggio sufficienti a determinare tali livelli significativamente più bassi, occorre posticipare la data suddetta.

(8) È proposto di fissare livelli massimi per la somma delle diossine e dei PCB diossina-simili espressi in equivalenti di tossicità dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS), utilizzando gli OMS-TEF, poiché questo è l'approccio più appropriato dal punto di vista tossicologico (...).

(...)

13) (...) i livelli massimi applicabili dovrebbero essere riesaminati entro un periodo di tempo stabilito allo scopo di fissare livelli più bassi. Entro il 31 dicembre 2008, pertanto, si vedrà se ridurre in modo significativo i livelli massimi per la somma delle diossine e dei PCB diossina-simili.”

Risulta quindi necessario effettuare monitoraggi continui e periodiche analisi del rischio al fine di individuare o anticipare nuovi problemi, cosicché si possano mettere in atto piani di prevenzione per tutelare la salute pubblica.

Da un lato gli organismi nazionali preposti al controllo attraverso piani di monitoraggio su scala nazionale, dall'altra parte i singoli operatori all'interno delle loro procedure di autocontrollo, contribuiscono a generare ogni anno nuovi dati sulla presenza e sulla concentrazione di residui chimici negli alimenti.

Diviene fondamentale porre attenzione alla produzione di informazioni dettagliate e precise relative alle azioni di monitoraggio (quali l'oggetto dell'indagine, il metodo di campionamento utilizzato, le sostanze oggetto di monitoraggio, i metodi analitici, i limiti di rilevabilità delle analisi,..) al fine di ottenere delle banche dati sempre più ampie precise per l'analisi del rischio. Tali valutazioni possono in questo modo divenire degli strumenti specifici e utilizzabili delle autorità di controllo per lo scambio di informazioni e per lo sviluppo di misure volte a garantire la sicurezza degli alimenti (Saegerman et al., 2006).

2. Le aflatossine

Le micotossine sono metaboliti secondari di diversi generi di funghi, che sono in grado di produrre effetti tossici di vario tipo e diversa entità sugli animali e sugli esseri umani, secondo le modalità e dei livelli di esposizione.

Le sindromi tossiche derivanti dall'assunzione di micotossine sia nell'uomo sia negli animali sono definite come "micotossicosi".

Le micotossicosi sono patologie conosciute già da molto tempo. La prima micotossicosi riconosciuta è stata probabilmente l'ergotismo, a metà del 1800, una patologia caratterizzata da necrosi degli arti e causata dall'ingestione di grano contaminato da sclerozi di *Claviceps purpurea*, i quali contengono metaboliti tossici (Van Egmond, 1989).

Nonostante durante la prima metà del XX° secolo numerose altre malattie causate da micotossine abbiano coinvolto persone in tutto il mondo, le micotossicosi rimasero patologie sconosciute fino ai primi anni sessanta, in seguito allo sviluppo di un focolaio, in Gran Bretagna, della "malattia X" dei tacchini. In pochi mesi morirono più di 100.000 tacchini, e migliaia di anatre e giovani fagiani (Asplin & Carnaghan, 1961).

Il problema della "malattia X" portò a un approccio multidisciplinare nei confronti della causa che aveva provocato tale patologia. Gli sforzi furono efficaci e portarono all'individuazione di una sostanza tossica presente nella farina di noci Brasiliane che era stata usata come fonte proteica nella dieta somministrata agli animali affetti in seguito dalla micotossicosi. Si scoprì che tale sostanza era prodotta da due funghi, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, e le fu dato il nome di "aflatossina", acronimo derivato dal nome della prima specie funginea. In seguito si scoprì che tale sostanza poteva essere separata cromatograficamente in quattro diversi componenti (Nesbitt et al., 1962; Hartley et al., 1963).

A tutti e quattro i componenti venne dato il nome "aflatossina", ma furono distinti in aflatossina B1, B2, G1 e G2 a seconda del colore fluorescente che emettono in relazione alla loro mobilità cromatografia. Successivamente divenne chiaro che il gruppo delle aflatossine consisteva di numerosi composti simili tra loro e che alcuni di questi sono tra i più potenti cancerogeni conosciuti.

A seguito del focolaio della Malattia X dei tacchini, venne molto approfondita la conoscenza relativa a queste sostanze, ne vennero scoperte e isolate altre e la consapevolezza sempre maggiore della loro tossicità indusse molte nazioni a porre dei limiti di legge relativi alle micotossine su alimenti e mangimi per animali.

Poco dopo la scoperta delle aflatossine, Allcroft e Carnaghan (1963) ipotizzarono che alcuni residui di aflatossina ingeriti con gli alimenti potessero ritrovarsi nel latte o in altri prodotti derivati da animali alimentati appunto con mangimi o farine contaminate. Nel latte di vacche alimentate con prodotti contaminati da aflatossina B1 venne infatti ritrovata una sostanza tossica che sulle anatre aveva lo stesso effetto dell'aflatossina B1 e che dopo la cagliatura del latte, si ritrovava legata alla caseina.

Tale sostanza inoltre rivelò una fluorescenza blu proprio come l'aflatossina B1 e, dato il suo primitivo isolamento dal latte, venne chiamata aflatossina M (da *milk*). Successivi studi sulla struttura dell'aflatossina rivelarono l'esistenza di due componenti, l'aflatossina M1 e l'aflatossina M2, metaboliti rispettivamente delle aflatossine B1 e B2 (Van Egmond, 1989).

Poiché l'aflatossina B1 è la più importante tra le aflatossine sia in relazione alla sua tossicità sia per quanto concerne la sua diffusione, maggiore attenzione è sempre stata posta al suo metabolita M1.

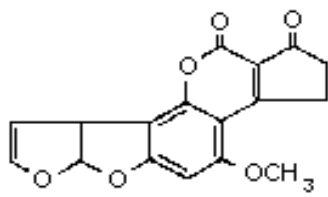


Figura 2.1: colonie di *Aspergillus Flavus*. Foto tratta dal sito www.aspergillus.org.uk

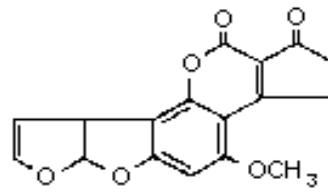
Vi sono altre aflatossine di grande importanza tossicologica. Le muffe che producono le micotossine più pericolose appartengono a cinque generi di funghi: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* e *Claviceps*.

Le specie del genere *Aspergillus* producono aflatossine, ocratossina A, sterigmatocistina e acido ciclopiazonico. In particolare le aflatossine possono essere prodotte da tre specie funginee, *A. flavus*, *A. parasiticus* e il più raro *A. nomius*. *A. flavus* produce solo le aflatossine B, mentre le altre due specie producono sia le B che le G. Le specie del genere *Penicillium* producono patulina, citrinina, rubratossina e una serie di altre sostanze tossiche così come l'ocratossina A e l'acido ciclopiazonico. Le specie del genere *Fusarium* producono i tricoteceni: deossinivalenolo (DON, vomitossina), 3-acetildeossinivalenolo, 15-acetildeossinivalenolo, nivalenolo, diacetossiscirpenolo, tossina T2, zearalenone, fumonisina, moniliformina e altre sostanze potenzialmente tossiche. Le specie del genere *Alternaria* producono una serie di sostanze biologicamente attive ma la cui tossicità per i mammiferi non è ancora stata definitivamente dimostrata. Le tossine del genere *Claviceps* sono principalmente gli alcaloidi che possono essere presenti negli sclerozi dei cereali quali la segale, una volta parassitati da questo fungo.

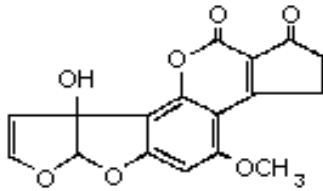
Tra le venti e più sostanze tossiche che fanno quindi parte del gruppo delle micotossine, cinque possono essere considerate quelle di maggior interesse e cioè aflatossine, ocratossine, zearalenone, deossinivalenolo e fumonosine.



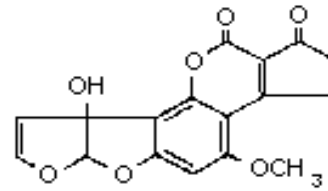
AFLATOXIN B₁



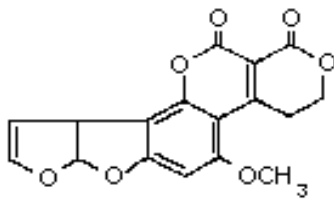
AFLATOXIN B₂



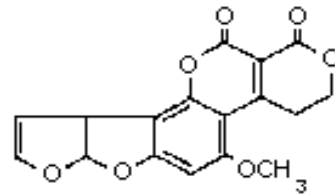
AFLATOXIN M₁



AFLATOXIN M₂



AFLATOXIN G₁



AFLATOXIN G₂

Figura 2.2: Struttura chimica delle aflatossine

2.1 Aflatossina M1 e suo destino nel latte

L'aflatossina M1 è un metabolita idrossilato dell'aflatossina B1, è presente nel latte di mammiferi che hanno ingerito AFB1 e la sua formula chimica è $C_{17}H_{12}O_7$.

L'aflatossina M1 è molto resistente ai trattamenti termici usualmente adoperati durante la pastorizzazione. Il tenore di AFM1 non viene ridotto nemmeno in seguito a congelamento, si è infatti ritrovata in prodotti caseari mantenuti per 8 mesi a tali temperature (Carvajal et al., 2003).

L'aflatossina M1 sembra legarsi alla caseina e per tale motivo la cagliata presenta una concentrazione di tale tossina maggiore rispetto al siero. L'affinità per la caseina è anche dimostrata da una maggior concentrazione nel formaggio rispetto al latte con cui è stato prodotto (Battacone et al, 2005, JECFA, 2001 a). Alcuni autori hanno espresso il rapporto tra la concentrazione dell'AFM1 nel formaggio e quella nel latte di partenza come "fattore di arricchimento". Nei prodotti caseari si è visto che tale fattore può variare da 2.5 a 3.3 nei formaggi molli e da 3.9 a 5.8 nei formaggi duri (JECFA, 2001 a;).

Riguardo alla stagionatura, in un'indagine svolta su formaggi dell'Italia meridionale l'incidenza media di contaminazione è risultata maggiore per i formaggi a lunga stagionatura, rispetto a quelli a media o a breve stagionatura. La maggiore positività riscontrata per i prodotti a lunga stagionatura potrebbe essere legata alle interazioni idrofobiche che si instaurano tra AFM1 e casina e che determinano una maggiore concentrazione della tossina nel formaggio (Minervini et al, 2001).

La produzione di lattici fermentati o di prodotti lattiero caseari ottenuti con l'aggiunta di fermenti come il kefir e lo yogurt non rivela alcuna riduzione significativa del contenuto di AFM1 relativamente al latte di partenza (JECFA, 2001 a).

Da un' analisi effettuata dalla Joint Expert Committee on Food Additives, la concentrazione media dell'aflatossina M1 nel latte è di 0.023 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nella dieta-tipo Europea, 0.022 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nella dieta-tipo dell'America Latina, 0.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nella dieta dell'Estremo Oriente, 0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nella dieta Medio Orientale e 0.002 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nella dieta Africana. Questi valori medi sono basati su un gran numero di campioni analizzati. L'ingestione di AFM1 derivata dal latte risulta quindi essere di 6.8 ng/capo die per la dieta Europea, 3.5 ng/capo die per la dieta del sud America, 12 ng/capo die per la dieta dell'Estremo Oriente, 0.7 ng/capo die per la dieta Medio-Orientale 0.1 ng/capo die per la dieta Africana (JECFA, 2001 b; Creppy, 2002).

2.2 Metabolismo e tossicità

Dagli studi effettuati su diversi animali la mutagenicità, la cancerogenicità e l'attività di legame con il DNA dell'aflatossina B1 derivano dalla sua attivazione da parte del citocromo P450 e la successiva formazione del suo 8,9-epossido. Tale composto ha vita breve ma risulta essere molto reattivo, e si pensa sia il principale mediatore del danno cellulare.

Il metabolismo dell'aflatossina B1 nel suo epossido e nell'aflatossina M1 può essere bloccato in vitro (in epatociti umani) e in vivo (nei ratti) attraverso trattamenti con oltipraz, un farmaco utilizzato contro la schistosomiasi, che blocca la formazione dell'epossido e induce l'enzima che ha la maggiore attività detossificante nei confronti delle aflatossine, ossia la glutazione S-transferase (JECFA, 2001 b). Alcune specie animali, come ad esempio il topo, che risultano essere resistenti all'attività di cancerogenesi dell'aflatossina, presentano un'attività della glutazione S-transferase da tre a cinque volte maggiore rispetto alle specie suscettibili, come ad esempio il ratto. Gli esseri umani hanno un'attività di coniugazione del glutazione agli epossidi dell'aflatossina inferiore a quella dei ratti e dei topi, e questo suggerisce che gli esseri umani hanno minor capacità di detossificare questi due importanti metaboliti (IARC, 1993). Tuttavia studi dimostrano che gli epatociti umani tendono a formare una minor quantità di epossidi rispetto agli epatociti dei ratti (JECFA, 2001 b).

Inoltre, l'attività della glutazione S-transferasi risulta ampiamente ridotta nel fegato di esseri umani affetti dal virus dell'epatite di tipo B (IARC, 2002).

L'aflatossina M1 è citotossica, e questo è stato dimostrato da studi in vitro su epatociti umani, e la sua tossicità acuta in molte specie animali è simile a quella derivata dall'assunzione di AFB1 (JECFA, 2001 b). Studi di tossicità acuta effettuati su anatre di un giorno di vita hanno evidenziato che l'aflatossina B1 e l'aflatossina M1 agiscono con meccanismi simili, provocando alterazioni subcellulari quali cambiamenti nelle cellule parenchimali del fegato, distacco dei ribosomi dal reticolo endoplasmatico rugoso e proliferazione del reticolo endoplasmatico liscio (JECFA, 2001 a). L'aflatossina B1 risulta genotossica e in grado di produrre, *in vitro* su culture cellulari sia di uomini sia di animali ma anche *in vivo* su uomini e molte specie animali, danni al DNA, mutazioni genetiche e anomalie cromosomiali. L'aflatossina B1 è epatotossica nell'uomo e negli

animali ed è nefrotossica e immunosoppressiva negli animali, con particolari effetti marcati sull'immunità cellulo-mediata.

Tale micotossina è in grado di superare la barriera placentare umana e si è osservata un'associazione tra l'esposizione all'AFB1 e danni alla crescita in bambini piccoli (IARC, 2002).

Per quanto riguarda l'aflatossina M1, non ci sono studi disponibili relativamente all'associazione tra quantitativo di M1 assunto con la dieta e il rischio di tumore al fegato (JECFA, 2001a).

2.3 Cancerogenicità

L'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) ha effettuato una prima ampia valutazione relativamente alla cancerogenicità delle aflatossine nel 1993.

Tali sostanze sono state studiate somministrate per diverse vie a diverse specie di topi e ratti, nei criceti, e in molte specie di pesci, anatre, scimmie. A seguito di somministrazione orale, mix di aflatossine e l'aflatossina B1 da sola sono in grado di provocare tumori epatici in tutte le specie testate tranne i topi.

L'Agenzia ritiene che ci siano dati sufficienti sull'uomo per considerare l'insieme delle aflatossine naturalmente presenti in natura e l'aflatossina B1 sostanze cancerogene, mentre non ci siano ancora studi sufficienti sull'uomo per stabilire la cancerogenicità dell'aflatossina M1.

Negli animali da esperimento invece ci sono sufficienti dati per stabilire la cancerogenicità sia di mix di aflatossine naturalmente presenti in natura sia relativamente ad AFB1 e AFM1.

Le aflatossine presenti in natura sono cancerogene e l'Agenzia ha classificato l'aflatossina B1 come una sostanza cancerogena per l'uomo, inserendola quindi nel gruppo 1. L'aflatossina M1 è stata invece classificata come un possibile cancerogeno per l'uomo, e inserita quindi nel gruppo 2B (IARC, 1993).

Nel 2002 l'Agenzia ha riconsiderato, alla luce delle nuove ricerche effettuate negli anni successivi al 1993, la valutazione sulle aflatossine. Dopo avere valutato i dati emersi dai recenti studi, l'Agenzia ha riconfermato la valutazione effettuata nel 1993 (IARC, 2002).

2.4 Carry –over

Dal momento in cui si osservò che le vacche da latte alimentate con razioni contaminate da AFB1 eliminavano aflatossina M1 con il latte, si effettuarono numerosi studi per capire la correlazione esistente tra quantità di AFB1 ingerita e quantità di AFM1 escreta. Gli studi condotti negli anni sessanta e settanta fotografavano una situazione in cui vi era ampia contaminazione degli alimenti, una produttività degli animali relativamente bassa e metodiche analitiche non molto sviluppate. Secondo alcune ricerche la concentrazione di M1 nel latte variava tra lo 0.2 e il 4% della concentrazione dell'aflatossina B1 ingerita con gli alimenti (Van Egmond, 1989; Pettersson, 1997). Inoltre si stabilì che le concentrazioni di aflatossina M1 nel latte variano da animale a animale, anche all'interno dello stesso allevamento, da un giorno a un altro, e da una mungitura a quella successiva. I risultati di numerose ricerche indicano che l'animale debba ingerire costantemente il cibo contaminato per 3-6 giorni prima di avere una concentrazione costante di M1 nel latte, mentre questa diviene non rilevabile dopo 2-4 giorni dalla sospensione della razione contaminata (JECFA, 2001 a).

Negli anni 80 e 90 alcuni fattori cambiarono: si produssero più informazioni relative al carry-over dell'aflatossina B1, relativamente soprattutto ai valori al di sotto del limite di legge, inoltre la produttività delle singole vacche crebbe notevolmente, e furono messi a punto metodi analitici sempre più precisi. Studi più recenti hanno ampliato il range di concentrazione di M1 nel latte, fissandolo tra lo 0.3 e il 6.2% della concentrazione dell'aflatossina B1. La percentuale più alta è stata ritrovata in un esperimento condotto su vacche Frisone a inizio e a fine lattazione e alimentate con diete naturalmente contaminate con basse concentrazioni di AFB1 (Veldman et al., 1992). Altri studi sul carry-over condotti negli anni '90 su vacche dai livelli produttivi bassi (10-20 litri di latte al giorno) hanno rilevato valori molto più bassi (0.5-0.6%) (Harvey et al., 1991; Galvano et al., 1996).

La maggior escrezione di AFM1 da parte di vacche con un'elevata produzione sia dovuto a una maggiore permeabilità delle membrane cellulari degli alveoli. Anche gli animali che presentano mastiti sembrano eliminare una maggiore quantità di AFM1, sempre per un aumento della permeabilità degli alveoli. E' stata quindi stabilita una correlazione lineare tra la quantità di AFB1 ingerita dagli animali e la concentrazione di AFM1 escreta con il latte, per valori di AFB1 compresi tra 5-80 µg:

afлатossina M1 (ng/kg di latte) = 1.2 x quantitativo di AFB1 assunto (µg/vacca die) + 1.9

Secondo questa relazione, per produrre latte con valori di AFM1 al di sotto di 0.05 µg/kg l'alimentazione degli animali può avere come contaminazione massima 40 µg/kg di AFB1 per animale al giorno. Considerando come media che le vacche da latte ingeriscono giornalmente circa 12 kg di alimenti composti, il contenuto di AFB1 negli alimenti non può superare i 3.4 µg/kg se si vuole rimanere al di sotto del limite di 50 ppt di AFM1 nel latte (JECFA, 2001 a).

2.5 La situazione in Italia nel 2003

Nell'autunno 2003 si è osservata una contaminazione anormale da aflatossina B1 nel mais prodotto in Italia. La siccità ed altri fattori concomitanti quali l'attacco da insetti e carenze nel controllo dell'umidità della granella prima dello stoccaggio hanno facilitato l'attacco delle muffe e determinato condizioni critiche per il mantenimento degli standard di sicurezza nell'alimentazione delle vacche da latte. Questa analisi è stata commissionata a distanza di un anno e mezzo dalla emergenza che ha interessato in modo particolare il Nord. Il fenomeno ha avuto una dimensione rilevante ed ha comportato l'attivazione di piani di monitoraggio e di sorveglianza negli allevamenti per verificare che le condizioni per l'immissione sul mercato del latte e degli alimenti impiegati per l'alimentazione delle vacche avvenisse nel rispetto delle norme di legge. Il sistema dei controlli ufficiali, prima che scoppiasse l'emergenza, era basato su un numero limitato di controlli a campione, nel quale le analisi, per motivi di ordine legale erano eseguite dai laboratori ufficiali con i metodi riconosciuti, quali HPLC. Viceversa le aziende di trasformazione stavano da tempo raccogliendo informazioni sulla qualità del latte mediante test immunoenzimatici di screening e per poter individuare lo sforzo organizzativo ed economico per rispondere all'emergenza è stato enorme. Prima che la gestione dei controlli ufficiali fosse intensificata al punto da poter individuare le partite di latte contaminate, gli allevamenti di provenienza e le partite di mais contaminato, c'è stata un periodo più o meno breve in cui non è stato possibile mantenere in attesa le cisterne di latte che conferivano il latte ai centri di raccolta e trattamento in attesa delle risposte dei test di controllo e di conseguenza non è da escludere che diverse partite di latte con livelli di aflatossina irregolari siano entrati nel circuito di produzione. Alcune aziende che già avevano in atto sistemi di monitoraggio delle partite di latte in arrivo, hanno intensificato i controlli per individuare le fonti di latte contaminato, utilizzando test immunoenzimatici (ELISA). Spinte dall'emergenza in alcune settimane le diverse regioni coinvolte dalle emergenze aflatossine hanno stanziato le risorse necessarie per intensificare i controlli necessari, bloccare le partite di latte contaminato ricorrendo a metodi immunoenzimatici di screening, poiché non sarebbe stato possibile effettuare così tanti controlli con il metodo HPLC. Inoltre, effettuando il controllo delle cisterne contenenti latte di diverse stalle si è reso opportuno stabilire un livello soglia (circa 40 ppt) di aflatossina nel latte di massa come livello di azione per controllare il latte a livello

delle singole stalle e, individuate quelle responsabili della contaminazione, provvedere a far cambiare l'alimentazione delle vacche e ripetere i controlli fintanto che i valori di aflatossine in test ripetuti a distanza di qualche giorno non dimostrassero il ritorno ad una condizione accettabile. E' anche emerso che le diverse stalle, non avendo la possibilità di verificare analiticamente la concentrazione nelle diverse partite di mais prodotto a livello aziendale e non avendo subito chiaro che la quota di mais nella dieta ed il livello di contaminazione del mais contribuivano entrambe al superamento dei limiti fissati dalla legge, hanno continuato per alcuni mesi a consegnare latte con livelli irregolari di aflatossine, impegnando ancora a lungo i servizi responsabili del controllo veterinario pubblico e dell'autocontrollo delle industrie di trasformazione.

3. I bifenili policlorurati

I bifenili policlorurati o PCB sono un sottoinsieme di un più vasto gruppo di sostanze chimiche sintetiche che vanno sotto il nome di idrocarburi alogenati. Sono derivati degli idrocarburi (composti costituiti esclusivamente da carbonio e idrogeno) in cui uno o più idrogeni sono sostituiti da atomi di alogeni (Piretti e Gaiti, 1990).

I rappresentanti più importanti degli idrocarburi alogenati, oltre ai PCB, sono le dibenzodiossine e i dibenzofurani policlorurati (PCDD/F), e anche sostanze biocide, come DDT, lindano ed esaclorbenzene. Una caratteristica comune alla maggior parte di queste sostanze è la loro persistenza nell'ambiente (Deml, 2000).

La formula chimica per i PCB è $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$, dove n è un numero di atomi di cloro che può variare da 1 a 10. Questa classe include tutti i composti con una struttura bifenilica (cioè due anelli benzenici legati fra loro) che si distinguono per il loro grado di clorazione e per la posizione degli atomi di cloro sulla molecola del bifenile. Teoricamente esiste la possibilità di ben 209 possibili congeneri, ma solo circa 130 di questi sono in realtà presenti nei prodotti commerciali (UNEP, 1999). Le preparazioni commerciali sono una miscela di 50 o più congeneri di PCB e sono identificate in base alla percentuale del loro contenuto di cloro. Per esempio l'Aroclor 1242, una delle miscele tecniche più utilizzate in passato, era una miscela di mono-, bi-, tri-, tetra-, penta-, esa- e epta-clorobifenili, con un contenuto di cloro del 42%. Una volta rilasciati nell'ambiente, i prodotti commerciali vanno incontro a lente trasformazioni così che la distribuzione dei diversi congeneri nei campioni ambientali o negli alimenti analizzati non rappresentano quella di alcuna miscela commerciale (ATSDR, 2001).

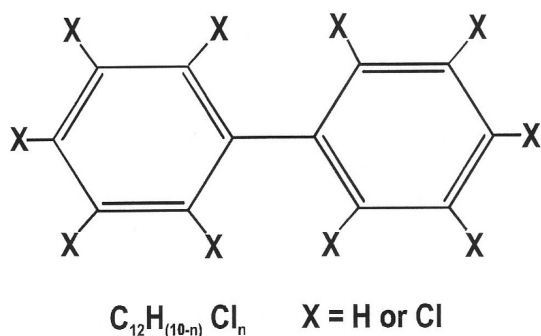


Figura 3.1 Struttura molecolare di un PCB. Ogni posizione dei due anelli può essere sostituita con un atomo di cloro (UNEP, 1999).

La stabilità chimica e anche le proprietà fisiche e la tossicità dei singoli congeneri di bifenili policlorurati dipendono dal numero e dalla posizione degli atomi di cloro e risultano in parte molto differenti. La posizione degli atomi di cloro nella molecola è responsabile anche della conformazione. La sostituzione in posizione 2,2' e 6,6' impedisce la rotazione di entrambi gli anelli benzenici e porta alla torsione dell'uno contro l'altro, mentre la sostituzione nelle posizioni 3,3', 4,4' e 5,5' favorisce la forma complanare piatta come nella molecola bifenile non sostituita. I congeneri mono-*orto*-sostituiti sono anche loro complanari (Deml, 2000).

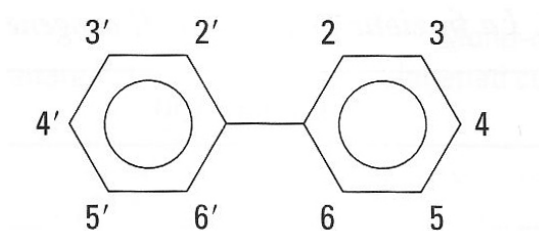


Figura 3.2. Numerazione del bifenile.

I PCB complanari, come pure i congeneri mono-*orto*-sostituiti, si comportano in modo simile alla 2, 3,7,8-tetracloro-para-dibenzodiossina (TCDD) (Deml, 2000). La TCDD è una molecola molto stabile, resistente al calore e agli agenti chimici, insolubile in acqua e

scarsamente nei grassi, la cui tossicità per l'uomo e per gli animali, sia acuta che cronica, è molto elevata (Bozza Marrubini et al., 1998).

Molte volte i valori di PCB vengono espressi come TEQ (Toxic Equivalent), ossia Concentrazione Tossico Equivalente. Questa unità di misura serve per avere un dato finale di tossicità del materiale esaminato. E' un metodo tramite il quale i residui di congeneri meno tossici di bifenili policlorurati, diossine e furani, sono espressi in termini di quantità equivalenti del congenere più tossico di tutti, cioè la 2,3,7,8-tetracloro-para-dibenzodiossina.

A questa sostanza viene convenzionalmente attribuito un Fattore di Tossico Equivalenza (TEF) uguale a 1 (Hallikainen e Vartiainen, 1997).

Il rischio per la salute umana e animale derivante dall'esposizione ai PCDD, PCDF e PCB 2,3,7,8-clorosostituiti viene calcolato sulla loro concentrazione totale espressa in equivalenti di 2,3,7,8-T4CDD (TEQ) ottenuti moltiplicando la concentrazione analitica di ciascun congenere per il corrispondente fattore di tossicità equivalente (TEF). Sommando i TEQ ottenuti si ottiene un unico valore che indica a quanta 2,3,7,8-T4CDD corrispondono complessivamente i congeneri dosati.

Tra le varie scale di tossicità relativa esistenti la più utilizzata è attualmente quella stabilita dalla World Health Organization (Brambilla et al, 2006).

Congenere	Rischio per la salute umana *		
	Safe, 1990	WHO, 1994	W HO, 1998
Non-orto PCB			
3,3',4,4'-T ₄ CB [77]	0,01	0,0005	0,0001
3,4,4',5-T ₄ CB [81]	–	–	0,0001
3,3',4,4',5-P ₅ CB [126]	0,1	0,1	0,1
3,3',4,4',5,5'-H ₆ CB [169]	0,05	0,01	0,01
Mono-orto PCB			
2,3,3',4,4'-P ₅ CB [105]	0,001	0,0001	0,0001
2,3,4,4',5-P ₅ CB [114]	0,001	0,0005	0,0005
2,3',4,4',5-P ₅ CB [118]	0,001	0,0001	0,0001
2',3,4,4',5-P ₅ CB [123]	0,001	0,0001	0,0001
2,3,3',4,4',5-H ₆ CB [156]	0,001	0,0005	0,0005
2,3,3',4,4',5'-H ₆ CB [157]	0,001	0,0005	0,0005
2,3',4,4',5,5'-H ₆ CB [167]	0,001	0,00001	0,00001
2,3,3',4,4',5,5'-H ₇ CB [189]	0,001	0,0001	0,0001
Di-orto PCB			
2,2',3,3',4,4'-H ₆ CB [128]	0,00002	–	–
2,2',3,4,4',5'-H ₆ CB [138]	0,00002	–	–
2,2',4,4',5,5'-H ₆ CB [153]	0,00002	–	–
2,2',3,3',4,4',5-H ₇ CB [170]	0,00002	0,0001	–
2,2',3,4,4',5,5'-H ₇ CB [180]	0,00002	0,00001	–

* ricavato per i mammiferi
** basato su un numero limitato di dati

Tabella 3.1. Fattori di tossicità equivalente (TEF) per la valutazione del rischio relativo a PCB diossina simili. Modificato da Brambilla et al., 2006.

3.1 Utilizzo e dispersione nell'ambiente

I PCB sono stati prodotti su scala industriale per più di cinquant'anni e sono stati esportati in tutto il mondo sia come sostanze chimiche sia come prodotti contenenti PCB. L'elenco degli Stati produttori di bifenili policlorurati comprende Austria, Cina, Repubblica Ceca, Francia, Germania, Italia, Giappone, Federazione Russa, Spagna, Regno Unito, e gli Stati Uniti d'America. Queste sostanze sono state comunemente utilizzate come fluidi dielettrici in condensatori e trasformatori, in sistemi idraulici e in molti altri applicazioni, molte delle quali sono ancora in uso.

Piccoli condensatori, contenenti solo pochi grammi di PCB, si possono ancora trovare in vecchi dispositivi elettrici utilizzati nelle aziende agricole, così come in frigoriferi e dispositivi di illuminazione al neon (Dyke e Stratford, 1998). Tali dispositivi elettrici, per le loro caratteristiche di piccolo ingombro, possono sfuggire ai censimenti effettuati dalle autorità preposte alla protezione ambientale, che in generale hanno attivato campagne per il corretto ritiro e messa in fuori-uso di tali componenti elettrici. Questo ha determinato – e in alcuni Paesi sta ancora determinando – una disseminazione piuttosto elevata nell'ambiente di potenziali sorgenti di PCB e dei prodotti che si originano dalla loro degradazione termica, quali i PCDF (DEFRA, 2002).

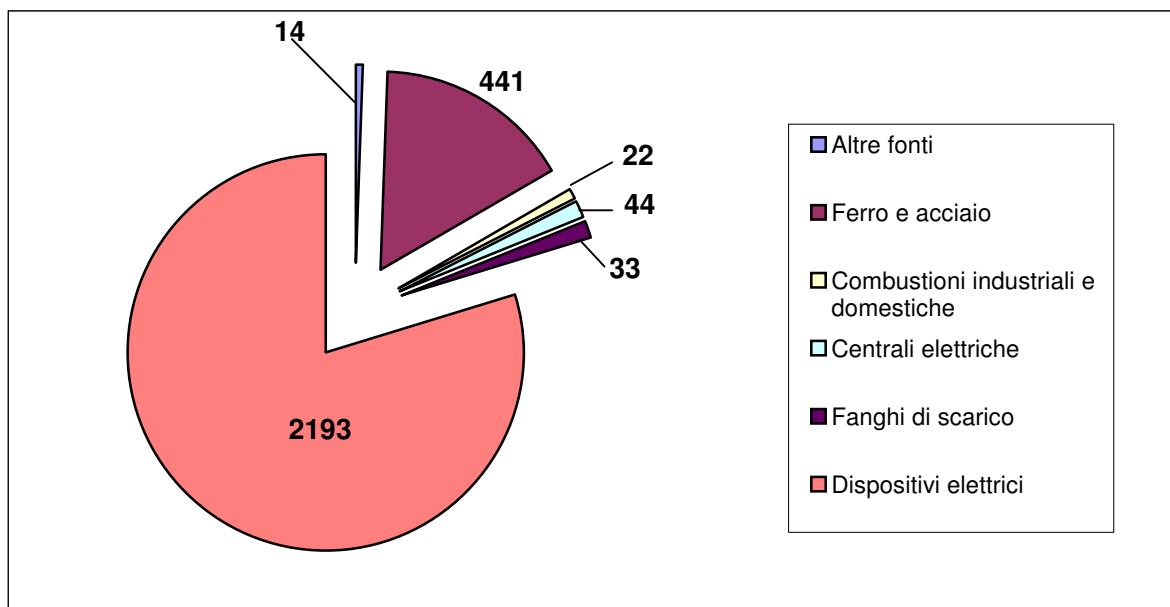


Figura 3.3. Quantitativi di PCB, espressi in kg, rilasciati nell'ambiente nell'anno 1998 in Gran Bretagna (DEFRA, 2002)

Le aree di utilizzo dei PCB vengono spesso suddivise in base alla loro presenza in sistemi chiusi, semichiusi o aperti. Questa classificazione si riferisce alla possibilità che hanno i PCB di fuoriuscire dal prodotto che li contiene e diffondersi nell'ambiente circostante (per esempio, i PCB contenuti in sistemi chiusi non possono facilmente disperdersi nell' ambiente) (UNEP, 1999).

Nella tabella sono indicati alcuni tra i più diffusi campi di impiego dei PCB (modificata da Deml, 2000):

Sistemi chiusi:	-Olio per trasformatori -Dielettrico nei condensatori -Sigillante
Sistemi semichiusi:	-Scambiatore di calore -Pompa per il vuoto -Fluido idraulico
Sistemi aperti:	-Olio da taglio -Lubrificante -Impregnante antincendio -Ammorbidente per materie plastiche
Additivo per:	-Inchiostro -Toner per fotocopiatrici -Smalti -Vernici

Tabella 3.2. Esempi di campi d'impiego dei PCB.

I bifenili policlorurati risultano inoltre essere molto stabili e proprio per questo erano considerati delle ottime sostanze dal punto di vista del loro utilizzo commerciale (UNEP, 1999).

Le proprietà tecnicamente importanti dei PCB sono (Deml, 2000):

- Sintesi facile, produzione economica
- Non infiammabile
- Resistente al calore
- Chimicamente stabile
- Non corrosivo

- Non cristallizza
- Elevata costante dielettrica
- Bassa tensione di vapore
- Alto punto di ebollizione
- Poco solubile in acqua
- Bassa tossicità acuta

Tuttavia proprio quelli che sono i vantaggi industriali dei PCB, sono anche le caratteristiche che li fanno rientrare tra i contaminanti ambientali più pericolosi e persistenti.

E' stato stimato che tra il 1930 e il 1983 siano stati prodotti a livello mondiale 1-1.5 milioni di tonnellate di PCB, di cui metà negli Stati Uniti. Quando, grazie a numerose ricerche, venne riconosciuta la loro diffusione ubiquitaria e il pericolo ambientale ad essi correlato, il loro utilizzo venne limitato all'inserimento in sistemi chiusi e la produzione terminò nel 1977 negli Stati Uniti e nel 1983 in Germania (Deml, 2000).

Il problema della presenza di contaminanti organici persistenti quali i PCBs, dipende dalla diffusione ambientale che questi composti hanno avuto ed hanno tuttora nell'ambiente, in conseguenza di dispersione accidentale (es. incendi di trasformatori) o smaltimento incontrollato di attrezzature elettriche/elettroniche contenenti PCB. La direttiva 96/59 sull'eliminazione dei PCB e dei PCT che sostituisce la precedente direttiva 76/403 mira a armonizzare le norme nazionali sull'eliminazione controllata dei PCB, la decontaminazione o eliminazione di apparecchiature contenenti PCB e/o l'eliminazione dei PCB usati con l'obiettivo della messa al bando totale. Per arginare i pericoli legati all'impiego di queste sostanze, la Svizzera, insieme ad altri 91 Stati, ha firmato nel maggio 2001 a Stoccolma l'omonima Convenzione sugli inquinanti organici persistenti. La Convenzione mette in particolare al bando i dodici POP più pericolosi, vietandone in larga misura la fabbricazione, l'impiego e il commercio. L'accordo prevede inoltre l'obbligo di costruire impianti di incenerimento e di smaltimento che generino meno POP, di allestire un inventario dei depositi di materiali contaminati da POP e smaltirne le scorie in modo ecologico. La Convenzione di Stoccolma è entrata ufficialmente in vigore il 17 maggio 2003. Le prime direttive europee in materia di PCB, finalizzate ad evitarne la dispersione nell'ambiente e ad assicurarne un corretto

smaltimento, in linea con le disposizioni già previste per altri preparati pericolosi, risalgono al 1976. Dopo una serie di ulteriori provvedimenti normativi viene infine emanata la 96/59/CE (recepita in Italia dal DLgs 22 maggio 1999 n. 209) concernente lo smaltimento dei policlorobifenili e dei policlorotrifenili (PCB/PCT) che abroga la precedente legislazione, riformulando la definizione dei PCB e riclassificando impianti ed apparecchiature contenenti tali sostanze non solo in base alla concentrazione del PCB ma anche in relazione al rischio di dispersione nell'ambiente.

A causa della loro persistenza i PCB sono ancora riscontrabili nell'ambiente. Sono stati individuati pressoché in tutti gli ambienti terrestri (suolo, aria, acqua,alimenti), in ogni nazione del mondo.

L'introduzione di bifenili policlorurati nell'ambiente e la loro diffusione avviene per evaporazione o dilavamento e trasporto con aerosol oppure per adsorbimento su particelle di polvere. In regioni non contaminate il contenuto di PCB misurato nell'aria risulta di 0.003 ng/m^3 , in regioni inquinate fino a 3 ng/m^3 (Deml, 2000).

Dall'atmosfera i PCB, per deposizione della polvere e con le precipitazioni, possono raggiungere il terreno, le acque superficiali e le piante. I bifenili policlorurati possono essere riscontrati negli organismi acquatici e nel terreno, nei quali si trovano concentrazioni particolarmente elevate (Deml, 2000).

L'esposizione dell'uomo a queste sostanze sembra essere quindi una conseguenza della ridistribuzione che i PCB subiscono una volta introdotti nell'ambiente. Poiché il grado di volatilizzazione e di degradazione dei bifenili policlorurati varia a seconda dei diversi congeneri, essi verranno ridistribuiti in proporzioni differenti nell'ambiente (WHO, 1992). La loro degradazione dipende dal grado di clorazione del bifenile. In generale, la persistenza dei diversi congeneri aumenta all'aumentare del numero degli atomi di cloro. I microorganismi sono in grado di degradare i mono-, i di- e i triclorobifenili abbastanza rapidamente, e i tetraclorobifenili piuttosto lentamente. I congeneri con un più elevato grado di clorazione invece non vengono biodegradati. Anche la diversa posizione dell'atomo di cloro influisce sul destino ambientale di queste sostanze: i congeneri che presentano un atomo di cloro in posizione para sono trasformati anaerobicamente, attraverso una dechlorurazione riduttiva, a congeneri con un minor grado di clorazione e quindi soggetti a una più facile degradazione aerobia (WHO, 1992).

Nell'acqua i bifenili policlorurati vengono adsorbiti a sedimenti e a materiale organico. Lo stretto legame con i sedimenti, soprattutto da parte dei congeneri con più atomi di cloro, diminuisce la quantità di sostanza che può volatilizzarsi. I congeneri con un minor grado di clorazione invece si adsorbono meno stabilmente. In questo modo comunque i PCB vengono immobilizzati nei sedimenti acquatici per un certo periodo, anche se è dimostrato che col tempo queste sostanze vengono nuovamente rilasciate nell'ambiente acquatico, che diviene così un reservoir di PCB capaci di riciclarsi ancora nell'ambiente. I pesci infatti sono tra gli alimenti maggiormente contaminati (WHO, 1992) .

3.2 Assorbimento e metabolismo

Queste sostanze possono essere assorbite dagli esseri viventi per inalazione, assunzione orale o attraverso la pelle, tramite diffusione passiva attraverso le membrane cellulari. Una volta assorbiti tendono ad accumularsi nei tessuti ricchi di lipidi, ma non soltanto. Studi su ratti alimentati con diete contenenti una miscela di PCB per esempio ha evidenziato come questi ultimi tendano a concentrarsi anche in rene, fegato, e cervello, anche se in misura minore (ATSDR, 2001).

Anche nel latte materno si ritrovano livelli elevati di PCB, relativamente agli altri tessuti, in quanto il latte contiene una elevata quota lipidica. Il pericolo maggiore in questo caso è rappresentato dal trasferimento di queste sostanze ai neonati attraverso l'allattamento. Altri studi su animali hanno dimostrato il passaggio dei PCB attraverso la barriera placentare e la contaminazione del feto da parte di questi inquinanti, anche se la quota maggiore raggiunge i neonati attraverso il latte (ATSDR, 2001).

In seguito ad esposizione protratta per alcune settimane il livello di PCB non diossina simili raggiunge un valore stabile nel latte e molecole a sei atomi di cloro quali PCB 138 e 153 mostrano il 'carry-over' più alto, nell'ordine del 50-60%. Dopo la fine dell'esposizione la concentrazione di PCB nel latte decresce rapidamente, del 50% circa, quindi segue una fase di graduale eliminazione (EFSA, 2005).

I bifenili policlorurati vengono metabolizzati soprattutto nel fegato dalla monossigenasi citocromo P-450 dipendente, dove la velocità di metabolismo e il tipo di metaboliti che si formano dipendono dal grado di clorazione e dalla posizione degli atomi di cloro. Nel metabolismo si formano inizialmente prodotti intermedi reattivi, ad esempio epossidi, che traspongono a metaboliti fenolici e possono essere ulteriormente metabolizzati per vie differenti. I metaboliti reattivi possono legarsi covalentemente alle proteine, all'RNA e al DNA e provocare rotture di catena nel DNA e sintesi di riparazione. La velocità del metabolismo e l'entità del legame nel fegato non si correla tuttavia con la tossicità. Ricerche con metaboliti idrossilati di singoli congeneri di PCB hanno dimostrato che questi sono meno tossici delle sostanze di partenza. A quanto pare le azioni biochimiche e tossiche di miscele di PCB sono provocate soprattutto dai congeneri invariati, contrariamente per quanto accade per molti altri inquinanti.

Nella valutazione dell'esposizione a queste sostanze si deve considerare che l'insieme di congeneri negli alimenti è notevolmente differente dalla miscela tecnica, poiché nella catena alimentare i singoli congeneri si accumulano in modo differente (Deml, 2000).

3.3 Tossicità e Sintomatologia

Diversi sono i sintomi che si rinvengono a seguito di esposizioni acute a PCB: cloracne, rash cutanei e altre alterazioni della pelle; diversi danni epatici tra cui aumento dei livelli sierici degli enzimi epatici, induzione di una serie di enzimi metabolizzanti e citocromo P-450 dipendenti e epatomegalia; calo di peso in neonati partoriti da madri che erano state esposte a queste sostanze; irritazioni agli occhi (ATSDR, 2001) e all'apparato respiratorio; cefalea; depressione; perdita di memoria; irritabilità; affaticamento e impotenza (UNEP, 1999).

In studi su animali si sono inoltre osservati: difficoltà ad acquistare peso; aumento di porfirine in fegato, reni e urine; alopecia e perdita delle unghie; alterazioni degli ormoni tiroidei; tossicità fetale; alterazioni del comportamento; calo della risposta immunitaria; variazione del peso di alcuni organi e alterazioni istopatologiche di timo e milza (ATSDR, 2001).

I danni conseguenti a esposizione cronica a bassi livelli di PCB si concentrano soprattutto su fegato e apparato riproduttore, e causano disturbi dello sviluppo, con una possibile ulteriore attività cancerogena (UNEP, 1999).

I congeneri PCB diossina simili si differenziano dagli altri per la loro capacità di agire come agonisti dei recettori aryl hydrocarbon (AhR) e pertanto hanno un profilo tossicologico simile alle diossine ed ai policloro di benzo furani (PCDF) e come questi hanno un caratteristico effetto sull'espressione dei geni regolati da questi recettori, compresa l'induzione del citocromo P450 CYP1A1 e la promozione della cancerogenesi. D'altra parte i congeneri non diossina simili non hanno affinità per i recettori AhR, ma mostrano una induzione del citocromo CYP 2B1/2 di tipo 'phenobarbital' ed anch'essi sono promotori della cancerogenesi, seppure meno potenti dei composti diossina simili (Schrenk, 2004; EPA 1996).

I risultati degli studi in vitro ed in vivo indicano che i PCB non sono mutageni a livello di geni o cromosomi. Gli studi di iniziazione-promozione di tumori nei ratti dimostrano che le miscele tecniche contenenti PCB diossina simili e non diossina simili promuovono la formazione di tumori epatici dopo un'iniziazione con altri cancerogeni genotossici.

Per questo motivo l'agenzia internazionale per la ricerca sul cancro IARC ha classificato i PCB nel gruppo 2A (probabili cancerogeni per l'uomo). I dati relativi alla specie umana

relativi ad una esposizione occupazionale ai PCB suggeriscono che l'esposizione ai PCB sia associata ad un aumentato rischio di cancro del tratto digerente ed al seno (EFSA, 2005).

3.4 Residui negli alimenti

Come già detto, i PCB si accumulano, come gli insetticidi clorurati, soprattutto nei tessuti ricchi di lipidi a causa della loro elevata liposolubilità. Nella produzione di latte si trasferiscono dal grasso dell'organismo al grasso del latte (Deml, 2000).

Proprio per questo motivo in molti Paesi del mondo si fanno continue ricerche per monitorare i livelli di PCB nel latte di donne gestanti (Atuma et al., 1998), in quello di animali in lattazione (Food Safety -Authority of Ireland, 2000).

E' quindi utile fornire una valutazione della diffusione ambientale di questi composti ed il trasferimento alla catena alimentare, specialmente in alimenti ad alta componente lipidica come molti derivati del latte, poiché si ritiene che più del 90% dell'esposizione ai PCB non diossino simili (NDL-PCB) nella popolazione in generale si abbia attraverso gli alimenti ed in particolare tramite i grassi animali. Sebbene pesce e altre fonti di grassi animali siano particolarmente importanti per l'accumulo di quantitativi rilevanti in individui che consumino grosse quantità di questi alimenti, il latte è l'alimento che maggiormente può incidere sull'esposizione della popolazione generale e l'esposizione attraverso il latte può interessare le fasce di popolazione più sensibili agli effetti tossici, in particolare i bambini (EFSA, 2005).

Inoltre, proprio da una indagine effettuata dalla commissione europea, risulta che i principali responsabili dell'ingestione media giornaliera di diossine e sostanze diossino simili all'interno dell'Unione europea siano proprio il latte e i prodotti lattiero-caseari (range variabile tra 16-39%), seguiti dalla carne e prodotti derivati (6-32%), dal pesce (2-63%). I prodotti di origine vegetale, per gli stati membri in cui è stato possibile ottenere dei dati, contribuiscono per valori tra il 6 e il 45%. Naturalmente il peso di queste categorie varia notevolmente da stato a stato, a seconda delle diverse abitudini alimentari (European Commission, 2000). In linea generale comunque si considera che il latte e i prodotti lattiero caseari contribuiscano non meno del 30% nell'ingestione umana di diossine attraverso la dieta (Focant et al, 2003).

Quando si analizzano dei campioni ambientali o alimentari, come pure sangue e latte umano, l'insieme dei congeneri riscontrati si distingue chiaramente dalle miscele commerciali ed è differente nelle singole specie animali in funzione dei diversi tempi di dimezzamento, specifici per i singoli congeneri.

Tuttavia alcuni congeneri si presentano nella maggior parte dei campioni. I congeneri complanari particolarmente tossici non sono riscontrabili nella maggior parte degli alimenti di origine animale e vegetale e nel latte materno. Alcuni ricercatori (Kalantzi et al., 2001) hanno tentato di valutare la distribuzione dei PCB nell'atmosfera terrestre. Poiché risultava molto difficoltoso raccogliere e analizzare diversi campioni atmosferici con una procedura standardizzata in diverse parti del mondo, hanno deciso di valutare la presenza di PCB in campioni di burro provenienti da ventidue paesi differenti, considerando questa sostanza un ottimo indicatore della situazione ambientale. Infatti la percentuale di grasso presente nel latte di vacca è condizionata dal tipo di alimentazione; buona parte dell'alimentazione delle vacche da latte è costituita da foraggio, e la concentrazione dei PCB sui campi e sui pascoli è correlata al *fall out* atmosferico.

Inoltre, poiché le abitudini alimentari dei Paesi Occidentali sono fortemente influenzate dall'assunzione di latte, carne e prodotti lattiero-caseari, le concentrazioni riscontrate nel burro forniscono dati interessanti circa l'esposizione dell'uomo a questi inquinanti attraverso la catena alimentare.

I valori più elevati sono stati riscontrati nella Repubblica Ceca (14090 pg/g di grasso, calcolati come somma totale dei vari congeneri ritrovati) mentre quelli più bassi in Australia (740 pg/g di grasso) e Nuova Zelanda (230 pg/g di grasso). In generale i Paesi dell'emisfero sud del nostro Pianeta sono risultati i meno contaminati, in relazione al loro passato di scarso utilizzo e di basse emissioni di PCB nell'ambiente. L'Europa e il Nord America risultano invece i Paesi maggiormente esposti, con l'Europa dell'Est ai vertici della classifica. Anche questa distribuzione risulta in accordo con la realtà industriale di queste Nazioni, dove si è assistito soltanto recentemente alla cessazione della produzione di PCB o del loro utilizzo. Il valore della contaminazione da PCB registrato in Italia, riferito alla somma dei vari congeneri trovati, è di 7660 pg/g di grasso (Kalantzi et al., 2001).

Nel 1999 in Belgio, si è verificato un trasferimento accidentale di policlorodibenzodiossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF) (insieme o separatamente, comunemente conosciuti come diossine), e di policlorobifenili (PCB) nella catena alimentare.

L'estensione e la gravità di tale incidente è stato in gran parte dovuto all'utilizzo di mangimi contaminati prodotti e distribuiti su larga scala in quanto destinati

all'alimentazione di animali da reddito (principalmente polli, suini, bovini) allevati in condizioni di intensività. A tale scopo è stato effettuato un monitoraggio, tra Gennaio e Aprile 2001, su 35 campioni di latte pastorizzato prelevati nei supermercati nell'area di Liege (Wallonia, Belgio). Tali campioni sono stati analizzati al fine di valutare la presenza di residui di PCB complanari, PCDD e PCDF. Questo studio ha rilevato valori di queste sostanze paragonabili a quelli individuati in altri paesi europei, ma ha anche sottolineato la fondamentale importanza di comprendere anche i PCB complanari nel calcolo dei TEQ in questo tipo di matrice (Focant et al, 2003).

In conseguenza di questo fatto, l'Unione Europea (EU) si è attivata per regolamentare e monitorare la presenza di tali contaminanti nelle filiere zootecniche (Regolamento 2001/2375/CE e Direttiva 2003/57/CE), stabilendo in primo luogo i livelli massimi per le diossine negli alimenti di origine animale e nei mangimi, e richiedendo agli Stati dell'Unione di inserire le opportune analisi all'interno del Piano Nazionale di Monitoraggio per i Residui negli Alimenti di Origine Animale (PNR) e del Piano Nazionale per l'Alimentazione Animale (PNAA). Da questi dati di monitoraggio sarà possibile valutare le tendenze nel tempo verso la riduzione dei livelli di contaminazione e quindi riesaminare a intervalli temporali regolari l'attendibilità e l'efficacia dei livelli normativi nella gestione del rischio.

L'ordinamento legislativo dell'EU sottolinea chiaramente la necessità di una riduzione progressiva della contaminazione da PCDD, PCDF, e PCB nella catena alimentare. Tale riduzione può essere effettiva solo se le potenziali fonti di emissione e i fattori di rischio di esposizione negli animali di interesse zootecnico vengono eliminati o, in ogni caso, ridotti.

La Commissione Europea ha adottato infine, il 3 febbraio 2006, un regolamento (Reg. CE n. 199/2006) che stabilisce i livelli massimi tollerabili di diossine e degli analoghi PCB nei mangimi e negli alimenti. Livelli massimi per le diossine in alimenti di origine animale e mangimi erano già in vigore dal 2002, ma la mancanza di dati e informazioni scientifiche sufficienti non furono stabiliti in quel momento livelli per i PCB simili. Questo regolamento fissa a 6,0 pg/g di grasso il livello massimo della somma di diossine, furani e PCB diossino simili nel latte e nei prodotti lattiero caseari, definiti in base alla somma dei valori di tossicità equivalente alla TCDD. Nello stesso regolamento sono definiti i congeneri PCB diossino simili PCB non-orto (77, 81, 126 e 169) e PCB mono-orto (105, 114, 118, 123, 156, 157,

167, 189) ed i valori dei coefficienti di tossicità equivalenti da utilizzare per stimare i valori TEQ (tossicità equivalente alla diossina). Non sono stati ancora fissati invece limiti massimi tollerabili per i PCB non diossino simili.

4. Valutazione del rischio

Nel Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare, si cita più volte il concetto di analisi del rischio.

Le considerazioni della Commissione, dal punto 16 al punto 21, trattano ampiamente sulla necessità di utilizzare l'analisi del rischio quale strumento indispensabile per garantire la sicurezza degli alimenti e introducono il concetto di principio di precauzione:

(16) Le misure adottate dagli Stati membri e dalla Comunità in materia di alimenti e di mangimi dovrebbero basarsi generalmente sull'analisi del rischio, tranne quando ciò non sia confacente alle circostanze o alla natura del provvedimento. Il ricorso all'analisi del rischio prima dell'adozione di tali misure dovrebbe agevolare la prevenzione di ostacoli ingiustificati alla libera circolazione degli alimenti.

(17) Quando la legislazione alimentare è intesa a ridurre, eliminare o evitare un rischio per la salute, le tre componenti interconnesse dell'analisi del rischio, vale a dire la valutazione, gestione e comunicazione del rischio, forniscono una metodologia sistematica per definire provvedimenti, o altri interventi a tutela della salute, efficaci, proporzionati e mirati.

(18) Affinché vi sia un clima di fiducia nel fondamento scientifico della legislazione alimentare, le valutazioni del rischio devono essere svolte in modo indipendente, obiettivo e trasparente ed essere basate sulle informazioni e sui dati scientifici disponibili.

(19) È generalmente riconosciuto che, in alcuni casi, la sola valutazione scientifica del rischio non è in grado di fornire tutte le informazioni su cui dovrebbe basarsi una decisione di gestione del rischio e che è legittimo prendere in considerazione altri fattori pertinenti, tra i quali aspetti di natura societale, economica, tradizionale, etica e ambientale nonché la realizzabilità dei controlli.

(20) Per garantire la tutela della salute nella Comunità ci si è avvalsi del principio di precauzione, creando ostacoli alla libera circolazione degli alimenti e dei mangimi. È pertanto necessario adottare una base uniforme in tutta la Comunità per l'uso di tale principio.

(21) Nei casi specifici in cui vi è un rischio per la vita o per la salute, ma permane una situazione di incertezza sul piano scientifico, il principio di precauzione costituisce un meccanismo per determinare misure di gestione del rischio o altri interventi volti a garantire il livello elevato di tutela della salute perseguito nella Comunità.

All'articolo 3 troviamo importanti definizioni, utili per comprendere il concetto di rischio e quello di pericolo, che talvolta possono venire confusi:

“Art. 3

(....)

9) "rischio", funzione della probabilità e della gravità di un effetto nocivo per la salute, conseguente alla presenza di un pericolo;

10) "analisi del rischio", processo costituito da tre componenti interconnesse: valutazione, gestione e comunicazione del rischio;

11) "valutazione del rischio", processo su base scientifica costituito da quattro fasi: individuazione del pericolo, caratterizzazione del pericolo, valutazione dell'esposizione al pericolo e caratterizzazione del rischio;

12) "gestione del rischio", processo, distinto dalla valutazione del rischio, consistente nell'esaminare alternative d'intervento consultando le parti interessate, tenendo conto della valutazione del rischio e di altri fattori pertinenti e, se necessario, compiendo adeguate scelte di prevenzione e di controllo;

13) "comunicazione del rischio", lo scambio interattivo, nell'intero arco del processo di analisi del rischio, di informazioni e pareri riguardanti gli elementi di pericolo e i rischi, i fattori connessi al rischio e la percezione del rischio, tra responsabili della valutazione del rischio, responsabili della gestione del rischio, consumatori, imprese alimentari e del settore dei mangimi, la comunità accademica e altri interessati, ivi compresi la spiegazione delle scoperte relative alla valutazione del rischio e il fondamento delle decisioni in tema di gestione del rischio;

14) "pericolo" o "elemento di pericolo", agente biologico, chimico o fisico contenuto in un alimento o mangime, o condizione in cui un alimento o un mangime si trova, in grado di provocare un effetto nocivo sulla salute;”

L'articolo 6, al punto 1 ribadisce il concetto che “ai fini del conseguimento dell'obiettivo generale di un livello elevato di tutela della vita e della salute umana, la legislazione alimentare si basa sull'analisi del rischio, tranne quando ciò non sia confacente alle

circostanze o alla natura del provvedimento” Al punto 2 invece si sottolinea come: “la valutazione del rischio si basa sugli elementi scientifici a disposizione ed è svolta in modo indipendente, obiettivo e trasparente

Infine, al punto 3 si legge: “la gestione del rischio tiene conto dei risultati della valutazione del rischio, e in particolare dei pareri dell'Autorità” ossia l'Autorità europea per la sicurezza alimentare, “nonché di altri aspetti, se pertinenti, e del principio di precauzione (...)”.

Al paragrafo 1 dell'articolo 7 si stabiliscono le modalità di utilizzo del principio di precauzione, ossia: “qualora, in circostanze specifiche a seguito di una valutazione delle informazioni disponibili, venga individuata la possibilità di effetti dannosi per la salute ma permanga una situazione d'incertezza sul piano scientifico, possono essere adottate le misure provvisorie di gestione del rischio necessarie per garantire il livello elevato di tutela della salute che la Comunità persegue, in attesa di ulteriori informazioni scientifiche per una valutazione più esauriente del rischio.

Infine, nell'articolo 17 si identificano chiaramente gli obblighi e le responsabilità relativi all'immissione in commercio di prodotti sani e sicuri: “spetta agli operatori del settore alimentare e dei mangimi garantire che nelle imprese da essi controllate gli alimenti o i mangimi soddisfino le disposizioni della legislazione alimentare inerenti alle loro attività in tutte le fasi della produzione, della trasformazione e della distribuzione e verificare che tali disposizioni siano soddisfatte”

L'analisi del rischio è composta quindi da tre grandi aree che interagiscono tra loro: la valutazione del rischio, la gestione del rischio e la comunicazione del rischio (figura 4.1). Ciascuna di queste tre grandi sfere di influenza si sovrappone all'altra. Un approccio di questo tipo prende in considerazione sia principi e conoscenze scientifiche correlate alla salute degli animali e dell'uomo, sia confronti con altre tipologie di rischi (questa è una parte della comunicazione del rischio), così come fattori socio-economici (presente nella gestione del rischio).

Lo scopo è quello di poter costituire delle linee guida che possono riguardare limiti massimi consentiti, o suggerimenti per la prevenzione del problema, o una combinazione di entrambe le cose. Idealmente tali indicazioni dovrebbero essere d'aiuto e accettate sia dai paesi produttori di derrate alimentari che da quelli importatori delle stesse (Kuiper_Goodman, 1999).



Figura 4.1: struttura dell'analisi del rischio per la sicurezza alimentare (Kupier-Goodman, 1999).

La valutazione del rischio risulta quindi il primo indispensabile passaggio per effettuare una corretta analisi del rischio.

Quando si parla di valutazione del rischio, si includono tutti i pericoli possibili, tra cui quelli chimici e microbiologici. Idealmente la valutazione del rischio include una valutazione tossicologica completa, una valutazione epidemiologica e dell'esposizione della popolazione al rischio e infine una caratterizzazione del rischio (Kupier_Goodman, 1999).

Per caratterizzazione del rischio si intende la stima quantitativa o semi quantitativa, insieme all'incertezza che ne deriva, della probabilità di verificarsi e della gravità di effetti/eventi negativi in una data popolazione in condizioni ben definite basate sull'identificazione e caratterizzazione del pericolo e su valutazioni dell'esposizione a

tale pericolo. Inoltre, la caratterizzazione del rischio è quel passaggio all'interno della valutazione del rischio che è in grado di integrare le informazioni relative al pericolo e all'esposizione, in modo da poter stimare l'importanza di qualunque rischio. (Renwick, 2004). Ne deriva che per effettuare il più correttamente possibile una valutazione del rischio, la sua caratterizzazione debba essere fatta in maniera più quantitativa possibile.

5. Parte speciale

5.1 Questioni per la gestione del rischio relativa alle aflatossine

Per fornire stime del rischio conseguenti all'emergenza aflatossine e dare quindi una dimensione al problema, per confrontare la situazione che si è venuta a creare con l'emergenza con la situazione pre-esistente anche al fine di poter fornire una stima del rischio relativa all'esposizione nel tempo dei consumatori è necessario analizzare i dati disponibili e definire quali possono essere considerati idonei per questo scopo. Infatti è utile considerare che molto latte, riconosciuto non idoneo per il consumo alimentare è stato distrutto, e che i controlli fatti nell'ambito della sorveglianza per ricontrrollare il latte di aziende coinvolte nell'emergenza non possono essere considerati validi per caratterizzare l'esposizione dei consumatori se riferiti a latte che non è stato posto in commercio, mentre dati raccolti in modo sistematico per monitorare la qualità del latte scaricato ed avviato alla lavorazione sono più idonei a valutare il rischio. Va chiarito a questo riguardo che è importante avere dati che siano rappresentativi della variabilità in un arco di tempo sufficientemente ampio e delle diverse realtà produttive che approvvigionano ciascun centro di raccolta ed è necessario correlare ai dati sulla concentrazione di aflatossine nel latte anche i dati sulla quantità di latte consegnato e utilizzato per la trasformazione. Inoltre è necessario valutare l'effetto che il processo può avere sulla concentrazione di aflatossine nel prodotto finale, per stimare la concentrazione dell'aflatossina nel latte al consumo. E' necessario valutare i consumi di latte in rapporto alle diverse classi di età e considerare, perché importante per la caratterizzazione del rischio l'incidenza dell'infezione da virus dell'epatite B, che influenza in modo significativo la sensibilità individuale all'azione tossica (epatocancerogena) delle aflatossine. E' utile capire se la gestione della crisi è stata in grado di evitare situazioni di rischio inaccettabili, se i dati raccolti sono sufficienti per un'analisi quantitativa e come organizzare un sistema di allerta e pianificare i controlli per il futuro.

5.2. Sviluppo e struttura della valutazione del rischio

5.2.1. Qualità dei dati sulla contaminazione del latte

I dati relativi alla contaminazione del latte sono stati ottenuti nell'ambito di due diversi piani di monitoraggio, realizzati dall'Industria Granarolo.

Per quanto riguarda il controllo delle aflatossine sono stati utilizzati i dati raccolti nell'arco di 4 anni (2001 - 2003) relativi al campionamento bisettimanale di tutte le cisterne di latte che pervenivano ai diversi stabilimenti dislocati in Italia. La frequenza dei controlli sistematica, come pure il controllo che ha riguardato tutti gli allevamenti conferenti e la registrazione delle quantità di latte consegnato hanno consentito di ottenere una banca dati estremamente utile per la finalità di questa valutazione del rischio. Non sono stati considerati i dati ripetuti che sono stati generati dalle analisi finalizzate alla sorveglianza degli stabilimenti che, avendo fatto registrare valori superiori alla norma, sono stati esclusi temporaneamente dalla raccolta per l'uso alimentare del latte. I dati di tipo quantitativo sono stati ottenuti mediante test ELISA, effettuati presso il laboratorio Pagamento Latte dell'azienda Granarolo, utilizzando procedure che sono state oggetto di validazione nell'intervallo tra 5 e 100 ng·kg⁻¹ e pertanto in grado di fornire una stima dell'incertezza, mentre al di sopra di questo intervallo si è dovuto fare riferimento ad alcuni dati quantitativi rilevati mediante HPLC. E' stato assunto che i valori maggiori di 100 ng·kg⁻¹ in potevano avere un valore casuale compreso tra questo limite ed il valore massimo che nell'arco dei diversi anni era stato rilevato con HPLC analizzando numerosi campioni di latte di massa fuori norma .

Per quanto riguarda i PCB i dati sono stati raccolti nell'arco di sette mesi (ottobre 2004 – maggio 2005) mediante un campionamento che ha riguardato tutti i conferenti (aziende di produzione) del latte 'alta qualità' e 'biologico' ed è stato ripetuto ad intervalli di circa tre mesi nelle diverse zone di raccolta. Le analisi sono state eseguite presso il Dipartimento Farmaco-Biologico dell'Università di Bari, utilizzando un metodo gascromatografico abbinato alla spettrometria di massa che ha un limite di quantificazione inferiore a 0,01 ng·L⁻¹ ed un'incertezza analitica riportata per i diversi congeneri PCB come richiesto dalla Direttiva 2002/70/EC del 26 luglio 2002. Il trattamenti del latte utilizzati nella produzione del latte da bere intero (pastorizzazione ed eventuale standardizzazione del tenore in grasso) non hanno alcun effetto sul tenore di aflatossine e PCB. Si realizza negli impianti però una miscelazione del latte all'interno dei serbatoi di stoccaggio che alimentano l'impianto di pastorizzazione. Poichè le quantità di latte a diversa concentrazione di aflatossine o PCB contribuiscono

significativamente a determinare la concentrazione di contaminanti nel prodotto finito è stato costruito un modello che simula l'arrivo ai diversi centri di raccolta delle autocisterne con il latte di massa prelevato nei diversi giri di raccolta (che è stato l'oggetto dei controlli analitici) e la miscelazione nei serbatoi di diverse dimensioni presenti in ciascun impianto. Non si è simulato invece la ripartizione dei contaminanti nelle confezioni, poiché prove fatte hanno dimostrato che la miscelazione e l'omogeneizzazione garantiscono una distribuzione uniforme di aflatossine e PCB.

Il trattamenti del latte utilizzati nella produzione del latte da bere intero (pastorizzazione ed eventuale standardizzazione del tenore in grasso) non hanno alcun effetto sul tenore di aflatossine e PCB. Si realizza negli impianti però una miscelazione del latte all'interno dei serbatoi di stoccaggio che alimentano l'impianto di pastorizzazione. Poiché le quantità di latte a diversa concentrazione di aflatossine o PCB contribuiscono significativamente a determinare la concentrazione di contaminanti nel prodotto finito è stato costruito un modello che simula l'arrivo ai diversi centri di raccolta delle autocisterne con il latte di massa prelevato nei diversi giri di raccolta (che è stato l'oggetto dei controlli analitici) e la miscelazione nei serbatoi di diverse dimensioni presenti in ciascun impianto. Non si è simulato invece la ripartizione dei contaminanti nelle confezioni, poiché prove fatte hanno dimostrato che la miscelazione e l'omogeneizzazione garantiscono una distribuzione uniforme di aflatossine e PCB.

5.2.2. Metodo di prova per la determinazione di PCB nel latte

La metodica analitica per la determinazione dei residui di policlorobifenili (PCBs = 28, 52, 77, 95, 99, 101, 105, 110, 118, 126, 138, 146, 149, 151, 153, 156, 170, 177, 180, 183 e 187) nel latte consiste in una preliminare estrazione della matrice lipidica dai campioni: a circa 10g di latte esattamente pesati e preventivamente ben miscelati si aggiungono 1.3 ml di ammoniaca concentrata e 10 ml di etanolo 95°; si agita vigorosamente, quindi si aggiungono 25 ml di etere etilico e 25 ml di etere di petrolio si agita nuovamente e quindi si procede alla separazione delle due fasi, prelevando quantitativamente la sovrastante fase eterea. Si elimina il solvente per evaporazione sotto vuoto, quindi si trasferisce la matrice lipidica in un vial pesato esattamente e si pone in stufa a 45 °C fino a peso costante, al fine di determinare per via gravimetrica la percentuale totale dei lipidi.

Un'aliquota dell'estratto lipidico, addizionata di acido solforico, viene sottoposta alla fase di purificazione mediante cromatografia ad adsorbimento: ad una preliminare anidificazione della soluzione eterea con Na₂SO₄ segue una successiva purificazione mediante adsorbimento dell'estratto su microcolonna cromatografica (70 mm l., 5 mm d.i.), riempita con 1 gr di Florisil (60-120 mesh attivato a 120 °C per 16 h) e contenente nella parte superiore uno strato di Na₂SO₄ (0,3 cm).

La determinazione analitica viene effettuata mediante gas-cromatografia capillare (Carlo Erba GC 8000 Top) con rivelatore a cattura di elettroni (ECD 800 Ni63) e mediante GC-MS (GC 8000 series-MD 800). Determinazioni effettuate su campioni ai quali erano state aggiunte quantità note di standards di PCBs hanno evidenziato un recupero del 94-102%. Il limite di rilevabilità per questi composti risulta pari 0.02-0.10 ng/g.

5.2.3. Metodo di prova per la determinazione dell' aflatossina M1 nel latte

Per l'analisi della aflatossina M1 nel latte si è utilizzato un kit immunoenzimatico.

Il kit immunoenzimatico contiene:

- Micropiastra di poliestere: 96 pozzetti adsorbiti con anticorpi anti AFM1;
- Aflatossina M1 standard a diverse concentrazioni
- Tampone di lavaggio
- Coniugato enzimatico
- Soluzione di diluizione del coniugato enzimatico
- Tampone di diluizione del cromogeno
- Cromogeno
- Soluzione d'arresto
- Lettore di micropiastre

Il metodo ELISA consente di analizzare un elevato numero di campioni di latte in un'unica seduta analitica senza pretrattamenti del campione. Il latte, infatti, è semplicemente sgrassato per centrifugazione, talvolta diluito, e poi analizzato. Questo

rappresenta un vantaggio rispetto ad altre tecniche che richiedono una fase di estrazione e purificazione dell'aflatossina dalla matrice.

Il saggio è effettuato su micropiastra di poliestere costituita da 96 pozzetti precedentemente adsorbiti con anticorpi anti-aflatossina M1. Nella micropiastra si aggiungono gli standard ed i campioni (100 μ l); dopo una prima incubazione (45 minuti a temperatura ambiente e al buio), la micropiastra si lava con una soluzione di lavaggio, quindi si effettua una seconda incubazione (15 minuti) con il coniugato enzimatico (perossidasi aflatossina-coniugata).

Durante la prima incubazione, le molecole di AFM1 libere, contenute nella soluzione standard e nei campioni, si legano ai siti di legame degli anticorpi anti-aflatossina M1; nella seconda incubazione gli anticorpi rimasti liberi interagiscono con il coniugato enzimatico.

Al termine della seconda incubazione si effettua nuovamente il lavaggio della micropiastra in modo da eliminare qualsiasi altra sostanza non legata. Segue poi una fase di sviluppo, durante la quale il coniugato enzimatico rimasto legato all'anticorpo e quindi alla fase solida viene rilevato mediante l'aggiunta di una soluzione di substrato e cromogeno incolore (tetrametilbenzidina): quest'ultimo nel momento in cui l'enzima coniugato si lega al substrato, assume una colorazione blu, e il colore che genera è inversamente proporzionale alla concentrazione di aflatossina M1. La reazione enzimatica viene bloccata aggiungendo la soluzione di arresto (50 μ l) costituita da acido solforico (il colore dal blu passa al giallo). Si procede con la lettura dell'assorbanza mediante un lettore di micropiastre e utilizzando una lunghezza d'onda di 450 nm. L'assorbanza risulta inversamente proporzionale alla concentrazione di aflatossina M1 contenuta nei campioni e nelle soluzioni standard.

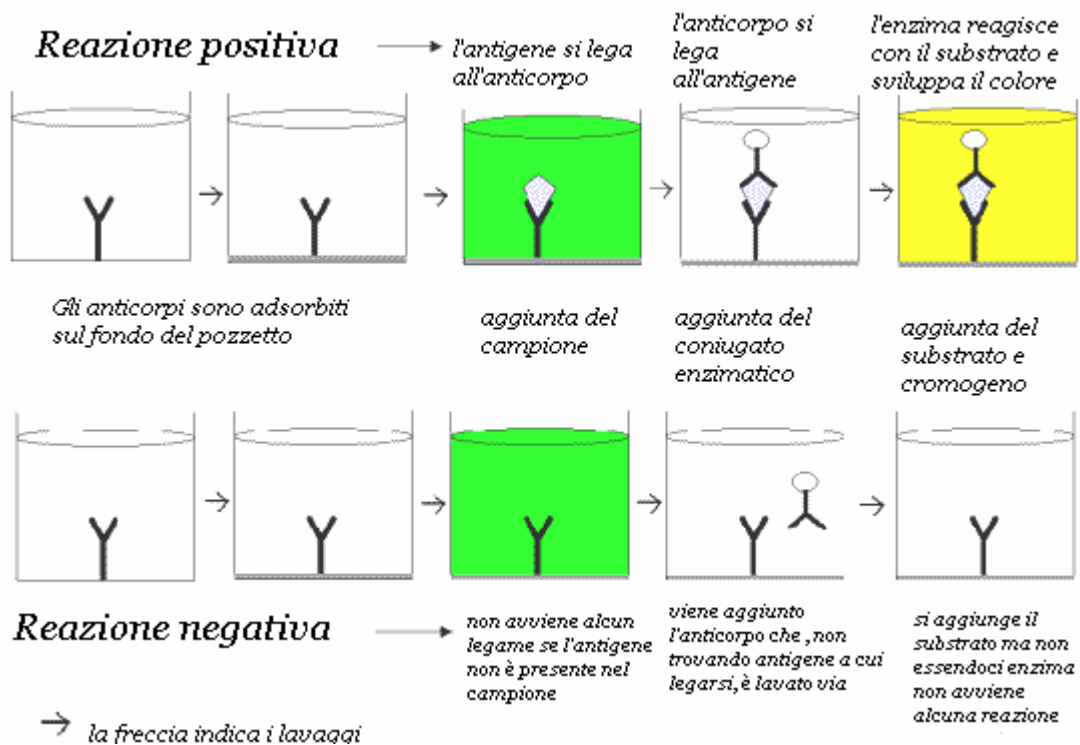


Figura 5.1: Metodica ELISA

Retta di calibrazione per ELISA

Mediante la calibrazione è possibile instaurare una correlazione tra la risposta ad una determinata concentrazione di standard e la concentrazione dei campioni, ottenute con il saggio. Questa correlazione si effettua costruendo una curva dose (standard)-risposta. La curva viene chiamata “curva standard” poiché si costruisce mediante sei soluzioni standard, aventi le seguenti concentrazioni di aflatoossina M1: 0 ppt, 5 ppt, 10 ppt, 25 ppt, 50 ppt e 100 ppt. A ciascuna concentrazione corrisponde un determinato valore di assorbanza.

La retta di calibrazione si costruisce esprimendo i valori delle assorbanze come valore relativo, ottenuto dal rapporto percentuale tra l’assorbanza dello standard o dei campioni e l’assorbanza dello standard zero (riferimento negativo B_0).

$$\frac{\text{assorbanza dello standard (o dei campioni)}}{\text{assorbanza del valore massimo}} * 100 = \frac{B}{B_0}$$

Lo standard zero risulta così pari a 100% di assorbanza relativa, mentre all'aumentare della concentrazione di AFM1 si otterranno valori percentuali proporzionalmente inferiori. I valori degli standard sono utilizzati per tracciare la curva di calibrazione che, nei saggi immunoenzimatici, viene descritta da una curva logistica a quattro parametri o dall'approssimazione di una esponenziale cubica.

In base ai valori di B/B_0 di ciascun campione si estrapolano le corrispondenti concentrazioni sulla curva di calibrazione. Dalla curva di calibrazione si ottengono i valori dei campioni per estrapolazione.

5.2.4 Consumi di latte e stima dell'esposizione

La stima quantitativa dell'esposizione è stata fatta utilizzando i dati raccolti dell'Istituto Nazionale della Nutrizione in una sua indagine che ha riguardato i consumi alimentari in Italia rilevati nel periodo 1994-96 (Turrini et al., 2001) e fornisce dati quantitativi sui consumi di latte nelle diverse fase di età: bambini da 1 a 9 anni; adolescenti da 10 a 17 anni; adulti da 18 a 65 anni ed anziani con più di 65 anni. I dati sono stati articolati in tabelle che riportavano i valori medi (media aritmetica geometrica) e la deviazione standard, ma non è stato possibile risalire ai dati grezzi. Dall'osservazione delle tabelle emerge chiaramente che la distribuzione della variabile 'consumo' non aveva una distribuzione di tipo 'normale', poiché la media geometrica era evidentemente spostata rispetto alla media algebrica e la deviazione standard era molto ampia. Per questo motivo, abbiamo ritenuto utile utilizzare tecniche di 'fitting' che ci hanno permesso di individuare per ciascuna categorie di età una distribuzione di tipo 'log normale' che ben si adattava ai parametri (media, mediana, deviazione standard) riportati ed è stata utilizzata una tecnica di simulazione per definire l'incertezza più probabile relativa alla distribuzione così definita (Figura 5.2).

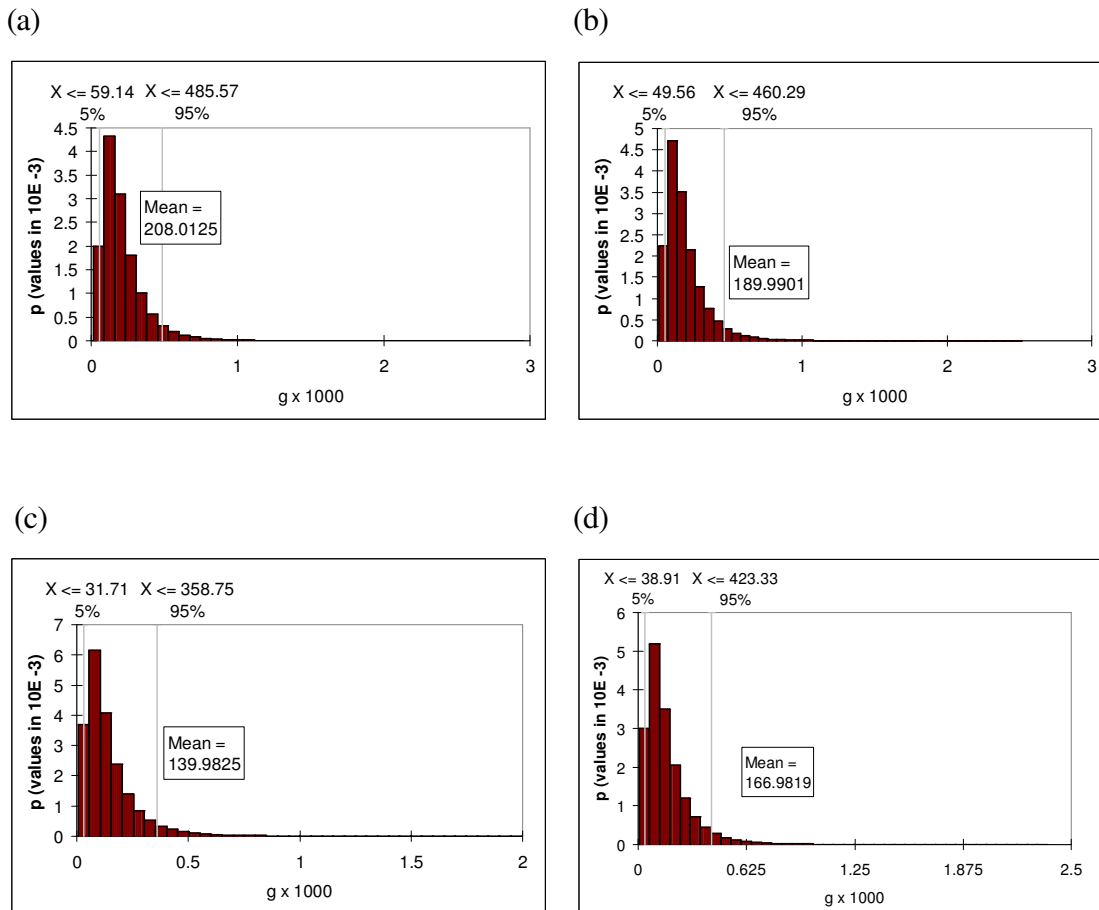


Figura 5.2: Consumi di latte in (a) bambini; (b) adolescenti; (c) adulti; (d) anziani

Poiché i modelli di valutazione della relazione dose-risposta necessari alla caratterizzazione del rischio richiedono la definizione del rapporto tra quantità assunta giornalmente e peso corporeo, si è reso indispensabile produrre per ciascuna categoria di consumatori (bambini, adolescenti, adulti ed anziani) una distribuzione della variabile peso corporeo. A tal fine sono stati utilizzati i dati forniti dall'ISTAT in un rapporto di un'indagine multiscopo sullo stato di salute degli italiani (ISTAT, 2002) in cui sono stati dati indicatori dell'obesità degli individui di diversa età (BMI) che ci hanno permesso, incrociando questi dati con i dati antropometrici (altezza) di stimare in modo affidabile il peso e la prevalenza relativa degli individui in rapporto agli standard di peso. Sia i dati relativi all'indice di massa corporea, che i dati relativi all'altezza riportavano dati percentile che ci hanno permesso di calcolare non solo la variabilità, ma anche l'incertezza relativa ai valori del peso corporeo per ciascuna classe (Figura 5.3).

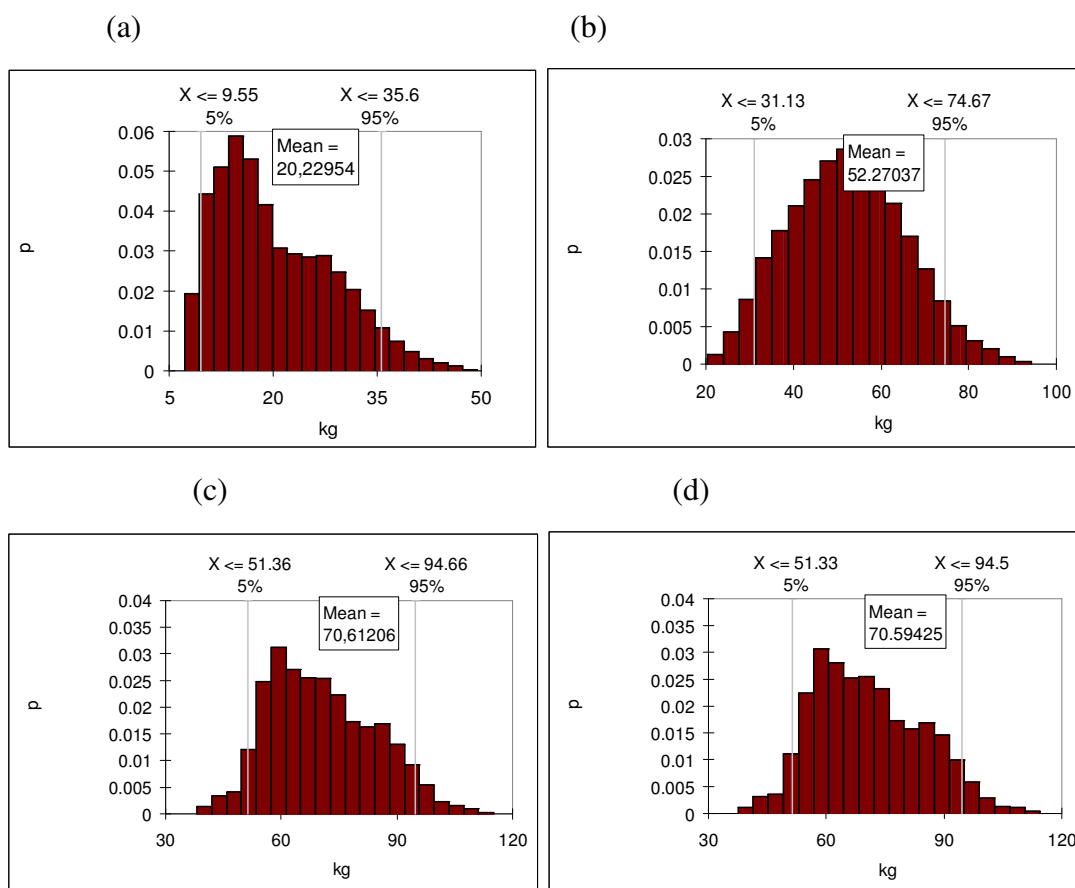


Figura 5.3: Distribuzione di frequenza per il peso corporeo in: (a) bambini; (b) adolescenti; (c) adulti; (d) anziani

Un modello stocastico (probabilistico) che calcola l'esposizione deve considerare la correlazione tra età, quantità di latte consumata e peso corporeo, ma anche la probabilità che un individuo di quell'età e peso corporeo sia effettivamente rappresentativo della popolazione. Perciò, la prevalenza relativa degli individui nelle diverse classi della popolazione è stata ponderata con un metodo stocastico sulla base dei dati di un censimento della popolazione italiana realizzato dall'ISTAT nel 2001 (ISTAT, 2004). L'assunzione dei contaminanti (aflatossina M1 e PCB) con il latte è stata simulata utilizzando l'equazione $Y_i = \sum(X_{v,i,t} * C_{v,i,t})$ dove $X_{v,i,t}$ è la quantità di latte (grammi) di origine v, consumata dal soggetto i il giorno t ($t = 1, \dots, T$) e $C_{v,i,t}$ è la concentrazione del contaminante espressa in ng (o TEQ diossina per i PCB dioxin like) per grammo di latte.

5.2.5 Caratterizzazione del pericolo

Poiché sulla base delle valutazioni tossicologiche è emerso che gli individui infetti da virus dell'epatite virale di tipo B sono molto più suscettibili all'azione genotossica e cancerogena dell'aflatossina, si è reso necessario definire la prevalenza relativa degli infetti nelle diverse classi di età (fortunatamente la vaccinazione ha ridotto la prevalenza nei bambini ed adolescenti). Questi dato sono stati ricavati da diversi studi recentemente realizzati da studiosi che collaborano con l'osservatorio italiano sulle epatiti infettive (Bonanni et al., 2003; Da Villa et al., 2004; Stroffolini et al., 2003).

Per la caratterizzazione del rischio sono stati utilizzati i coefficienti di potenza cancerogena dell'aflatossina M1 calcolati da un panel di esperti incaricati dall'organizzazione mondiale della sanità (JECFA, 1999; JECFA, 2001 b) ed i coefficienti di potenza cancerogena delle diossine ed i fattori di tossicità equivalente dei composti PCB-DL e PCB-NDL stabilito da un panel di esperti dell'organizzazione mondiale della sanità (WHO, 1998). Pertanto, relativamente alla caratterizzazione del rischio PCB si è tenuto conto della concentrazione relativa dei diversi PCBs.

Nella Figura 5.4 è riportata una schematizzazione del modello di analisi per le aflatossine. Il modello per l'analisi del rischio dovuto ai PCB è simile, sovrapponibile per la parte che riguarda il consumo e l'esposizione in rapporto al peso corporeo. Per caratterizzare il rischio PCB è stata necessario il calcolo della quantità totale di equivalenti diossina (TEQ) adottando i coefficienti di potenza per i diversi composti diossino e non diossino simili. Inoltre non sono individuate, come nel caso delle aflatossine, categorie di individui più sensibili.

Modelli dose risposta per l'aflatossina M1 valutati da JECFA

Poiché l'aflatossina M1 è un metabolita dell'AFB1, si suppone che induca epatocarcinoma nei roditori con lo stesso meccanismo dell'aflatossina B1. La commissione di esperti del JECFA ha stabilito che la stima del potenziale cancerogeno dall'aflatossina B1 possa essere utilizzato per valutare il rischio associato all'assunzione di aflatossina M1.

I valori di potenza cancerogena per le aflatossina M1, definiti dal JECFA sulla base di modelli animali in cui è stata comparata la potenza relativa di aflatossina B1 ed M1 e sulla base dei dati ricavati da studi epidemiologici nell'uomo in cui è definita la potenza relativa

dell'aflatossina B1 in individui infettati o no con il virus dell'epatite B, sono pari a 0,03 casi aggiuntivi per 100.000 individui per anno per ng di aflatossina ingerita al giorno in individui sensibili (infettati dal virus dell'epatite B, ossia HBsAg⁺) (con limiti compresi tra 0,005 e 0,05) mentre per la popolazione generale (ossia per i soggetti HBsAg⁻) è pari a 0,001 casi aggiuntivi per 100.000 per anno per ng di aflatossina ingerita giornalmente (con limiti compresi tra 0,0002 e 0,003).

La stima del potenziale cancerogeno in una popolazione in cui la prevalenza di soggetti HBsAg⁺ sia un valore P , è stato calcolato che sia la combinazione ponderata della potenza calcolata per i soggetti HBsAg⁺ e per quelli HBsAg⁻, secondo la formula:

$$\text{Potenziale cancerogeno} = (0.001 \times [1 - P]) + (0.03 \times P)$$

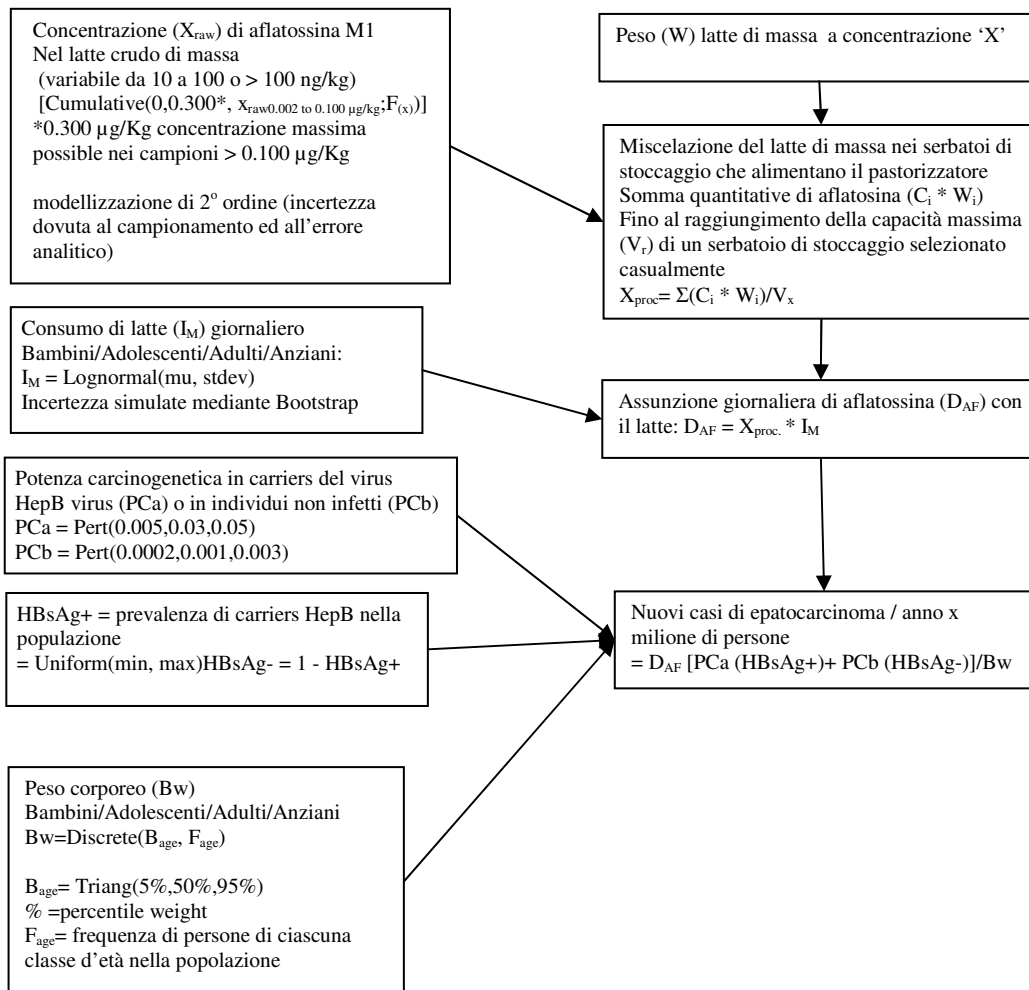


Figura 5.4: Modello di analisi utilizzato per la stima del rischio conseguente al consumo di latte contaminato da aflatossine

Modelli dose risposta per i PCB valutati da EPA

Una stima dell'esposizione per la popolazione italiana è stata fatta utilizzando i dati sulla contaminazione da PCB del latte, le quantità di latte consegnate e simulando l'effetto della miscelazione presso i diversi stabilimenti di raccolta e combinandoli con le stime sui consumi di latte della popolazione italiana nelle diverse categorie di consumatori (classi età) e le stime del peso corporeo.

Per la caratterizzazione del rischio si è fatto riferimento al modello dose-risposta proposto dall'EPA (1996) che considera il potenziale cancerogenetico delle miscele PCB, definito sulla base di numerosi sperimentazioni animali. Gli studi sui roditori hanno dimostrato che il fegato e la tiroide sono il principale bersaglio della cancerogenesi mediata dai PCB. Nel modello EPA il rischio è calcolato sulla base della dose media giornaliera (LADD) definita dal prodotto della concentrazione dei PCB nell'alimento, della quantità di alimento ingerito e della durata dell'esposizione, diviso per il peso corporeo e la durata della vita. Fattori di correlazione opportunamente selezionati sono moltiplicati per i livelli di esposizione media (LADD) per stimare il rischio di cancro.

Il potenziale cancerogeno calcolato in base alle sperimentazioni animali è descritto da un valore ED10 che corrisponde alla dose giornaliera media che somministrata per l'intero arco della vita aumenta l'incidenza di tumori del 10% e da un valore LED10 che corrisponde al suo limite inferiore. Quest'ultimo valore è utile a stimare l'incertezza dovuta ai diversi cofattori che nella sperimentazione influenzano la relazione dose risposta. Per un'estrapolazione a dosi più basse i valori ED10 e LED10 sono convertiti in pendenza (coefficiente di correlazione) della relazione dose risposta calcolando $0,10/ED10$ e $0,10/LED10$. Quest'ultimo coefficiente permette di definire un limite superiore della relazione dose risposta ed è utilizzato per la caratterizzazione del rischio. I valori ED10 ed LED10 ed i coefficienti di correlazione utilizzati per un'estrapolazione lineare alle basse dosi della relazione dose-risposta è differente per i diversi congeneri PCB, essendo l'attività dei PCB diossino simili molto maggiore. A tal fine il contributo relativo al rischio dovuto alla presenza dei PCB diossino simili deve essere calcolato separatamente da quello dei congeneri non diossino simili. Per computare le differenze tra i diversi congeneri dei PCB diossino simili è utile riportare i dati sulla concentrazione in equivalenti TCDD diossina ed a tal fine sono stati utilizzati i coefficienti elaborati dal gruppo di esperti dell'organizzazione mondiale della sanità (WHO, 1998).

5.3 Risultati

L'analisi è stata condotta relativamente a ciascuna zona in relazione alla dislocazione degli stabilimenti di raccolta (Anzio, Bari, Bologna, Castel San Pietro, Soliera, Milano, Novara, Rimini) tenendo così in considerazione sia le differenze geografiche nella contaminazione ambientale che le caratteristiche degli impianti (dimensioni e numero dei serbatoi di stoccaggio, quantità di latte in lavorazione).

5.3.1. Aflatossine

I dati relativi alla contaminazione del latte sono stati ottenuti nell'ambito di due diversi piani di monitoraggio, realizzati dall'Industria Granarolo. In particolare abbiamo voluto dare rilievo alla situazione di crisi osservata a partire dall'autunno 2003 e che si è protratta per diversi mesi. Perciò abbiamo fatto un'analisi relativa ai dati raccolti fino all'agosto 2003 (a partire dal 2001) considerando questi come dati storici, mentre abbiamo analizzato separatamente i dati raccolti nel periodo settembre 2003 – Dicembre 2004. L'analisi è stata fatta per ciascuno stabilimento di produzione e per le consegne di latte che ad esso pervenivano. Relativamente alla regione Emilia Romagna è emerso che la media della concentrazione di aflatossina del latte che nel periodo gennaio 2001 – agosto 2003 era compresa tra 24 e 48 ng/kg, con punte fino ad 84 ng/kg in un 5% dei campioni, mentre nel periodo settembre 2003 – dicembre 2004 si stimano livelli medi compresi tra 27 e 54 ng/kg, con punte fino a 182 ng/kg in un 5% dei campioni (Allegato I: Tabelle 1 e 1a, Figura 1). Occorre precisare a tal riguardo che si tratta delle consegne di latte che sono state effettivamente autorizzate alla lavorazione e quindi è escluso il latte che per effetto delle misure di sorveglianza attivate in conseguenza dell'emergenza è stato escluso dal consumo alimentare e ciò dimostrerebbe che la gestione della crisi è stata in grado di prevenire un significativo peggioramento della qualità della materia prima utilizzata per produrre il latte alimentare. Il latte pastorizzato prodotto nel periodo gennaio 2001 – agosto 2003 aveva una concentrazione media stimata di aflatossina compresa tra 15 e 39 ng/kg, con punte fino a 52 ng/kg in un 5% dei campioni, mentre nel periodo successivo si stimano valori lievemente superiori, tra 25 e 43 ng/kg con punte fino a 103 ng/kg in un 5% dei campioni (Allegato I: Tabelle 1 e 1a, Figura 1). Occorre precisare che le distribuzioni probabilistiche relative al latte di massa non tengono conto delle quantità consegnate, mentre quelle relative al latte pastorizzato tengono conto delle quantità e dell'effetto miscelazione. In conseguenza delle quantità di aflatossine del latte si stima che

l'esposizione media giornaliera all'aflatossina M1 dovuta al consumo di latte nella categoria 'bambini' di età compresa tra 1 e 9 anni sia stata in un intervallo compreso tra 0,187 e 0,473 ng/kg di peso corporeo (nel 5% $\geq 1,223$ ng/kg p.c.) nel periodo gennaio 2001 – agosto 2003, mentre sia aumentata a 0,317 - 0,584 ng/kg p.c. (nel 5% $\geq 1,505$) nel periodo settembre 2003 – dicembre 2004 (Allegato I: Tabelle 1 e 1a, Figura 4, 5 e 5a). Tenendo conto del fatto dei consumi di latte in ciascuna classe di età e dell'incidenza del fattore 'infezione da virus HepB', peraltro bassissima in Italia nei bambini ed adolescenti in conseguenza della vaccinazione obbligatoria, si stima che non vi siano stato alcun contributo significativo del latte alimentare nell'incidenza di casi aggiuntivi di epatocarcinoma, che è ritenuta la conseguenza più importante possibile di un'esposizione cronica a livelli così bassi di esposizione. In particolare si stima che il numero medio di casi aggiuntivi (che si aggiungono ai casi dovuti a fattori diversi e cioè non correlati all'assunzione di aflatossine con il latte) stimati nel periodo gennaio 2001 – agosto 2003 erano 0,004 – 0,011 per milione per anno, mentre nel periodo settembre 2003 – dicembre 2004 i valori sono aumentati a 0,007 – 0,014 (Allegato I: Tabelle 1 e 1a, Figura 8 e 9). Ponendo attenzione agli estremi della distribuzione di probabilità si può osservare che con una probabilità pari al 5% si arriva ad osservare un incremento che va da 0,011 – 0,026 casi per milione per anno, nel periodo 2001 – agosto 2003, a 0,017 a 0,031 casi per milione per anno, nel periodo settembre 2003 – dicembre 2004. Questa differenza così limitata è dovuta alla bassa potenza cancerogena dell'aflatossina M1 nella popolazione e alla mancanza di fattori di rischio quali l'infezione da virus HepB nelle categorie più a rischio (bambini ed adolescenti) che mantiene bassa la sensitività della relazione dose-risposta a differenze di esposizione alle aflatossine come quelle da noi osservate.

La situazione osservata nella zona di produzione Centro – Sud mostra che la presenza di aflatossine nel latte di massa è stata diversa nel Lazio (Stabilimento di Anzio) e nella Puglia (Stabilimento di Bari, Gioia del Colle). La situazione in Puglia è stata migliore, con concentrazioni medie di aflatossina comprese tra 19 e 27 ng/kg, con punte fino a 63 ng/kg nel 5% dei casi per il latte del tipo AQ, mentre nel Lazio si sono avuti valori medi tra 29 e 40 ng/kg, con punte fino a 165 ng/kg per il latte di tipo normale (Allegato I: Tabella 2, Figura 2). Si evidenzia in particolare che, da campioni raccolti nel periodo gennaio 2001 – agosto 2003, cioè prima del periodo della crisi aflatossine nel Nord Italia, la situazione di alcune aziende che conferivano il latte allo stabilimento di Anzio non era buona, in particolare per le aziende

che fornivano latte di qualità normale (non AQ) si rilevano concentrazioni di aflatossine che nel 12% dei casi erano superiori alla norma (50 ng/kg) ed in piccola percentuale (5%) superiore a 165 ng/kg, mentre situazioni così estreme non si sono osservate, nello stesso periodo, nel latte di alta qualità.

Nel Nord Ovest (stabilimenti di Novara e Milano) la situazione nel periodo antecedente la crisi (settembre 2003) era molto buona con una concentrazione media di aflatossina nel latte di massa compresa tra 21 e 25 ng/kg, con punte fino a 82 ng/kg nel 5% dei casi per il latte di tipo normale e nel latte pastorizzato solo il 5% dei campioni mostrava valori superiori a 38 – 48 ng/kg. Nel periodo settembre 2003 – dicembre 2004 la concentrazione media di aflatossina è compresa tra 33 e 34 ng/kg, con punte fino a 79 ng/kg nel 5% dei casi (valori simili raggiunti sia dal latte AQ che dal latte normale). I valori relativi al latte pastorizzato sono rimasti nel limite di 50 ng/kg nel 95% dei casi (Allegato I: Tabella 3, Figura 3). In merito al rischio d'incremento dell'incidenza di tumori epatici nel periodo dell'emergenza aflatossine (periodo settembre 2003 – dicembre 2004) si stima che l'incidenza media per il consumo di latte prodotto nella zona afferente alla Centrale di Milano sia pari a 0,007 casi per milione di individui per anno e con una probabilità pari all'1% si può stimare un'incidenza superiore a 0,03 casi/milione/anno (Allegato I: Figura 9).

Una concentrazione di aflatossine più alta è stata osservata nel latte di massa di alta qualità solo in alcune zone di raccolta ed in alcuni periodi. Si ritiene che un maggior consumo di alimenti necessario per garantire l'elevata concentrazione proteica e l'elevata produttività esponga ad un maggior rischio, tuttavia il controllo esercitato e la gestione della qualità nel sistema della produzione degli alimenti prodotti a livello aziendale o acquistati hanno certamente avuto un ruolo determinante, anche nelle situazioni stagionali più critiche e viceversa, in situazioni comunemente non critiche si sono osservate produzioni con alti livelli di aflatossine. I dati sul latte biologico sono stati analizzati solo per lo stabilimento di Bologna perché negli altri casi sono stati giudicati insufficienti per garantire un basso margine d'incertezza nella stima. Sulla base dei dati analizzati emerge comunque che la situazione della contaminazione da aflatossine è simile a quella osservata per il latte non biologico nel periodo gennaio 2001 – agosto 2003, mentre è stata migliore nel periodo della crisi, facendo registrare valori medi e probabilità di frequenza per le concentrazioni maggiori più bassi.

5.3.2 PCB

Il contenuto in PCB è correlato alla quantità di materia grassa e perciò latte con maggior contenuto in grasso è, seppur in misura limitata viste le differenze, più a rischio. Nell'indagine sono state prese in considerazione due tipologie di latte: latte ad alta qualità e latte biologico intero.

Latte Alta Qualità

I dati medi sulla contaminazione del latte di massa relativi ai PCB non diossino simili sono compresi in un intervallo tra 0,163 e 0,307 ng/kg, con valori al 5 percentile superiore fino a 2,55 ng/kg a Rimini e 1,28 ng/kg a Bari (Allegato II: Figura 1 e Tabella 2). Per i congeneri diossino simili i valori medi di concentrazione nel latte di massa variano tra 0,002 e 0,038 ng/kg, con valori al 5 percentile superiore che arrivano a 0,097 ng/kg a Milano e 0,179 ng/kg a Rimini (Allegato II: Figura 1 e Tabella 1). La miscelazione di diverse quantità di latte a concentrazione differente di PCB modifica in parte questi valori, determinando la concentrazione nel latte al consumo. Il modello che abbiamo sviluppato e che simula tale processo produce una stima nella quale la concentrazione di PCB diossino simili nel latte ha una probabilità compresa tra 0,73% e 20,68% di avere valori superiori a 0,5 ng/kg (Anzio 3,18%, Bari 1,13%, Bologna 4,48%, Milano 0,73% e Rimini 20,68%). Per i PCB diossino simili si ha una probabilità compresa tra 2,36% e 70,09% di raggiungere valori superiori a 0,01 ng/kg di latte al consumo (Anzio 3,39, Bari 7,61, Bologna 2,36, Milano 28,46 e Rimini 70,09) (Allegato II: Figura 2). Questo dimostra quanta importanza la zona di produzione del latte possa avere sui livelli di contaminazione del latte.

Il modello mostra che anche nella fascia a maggior rischio, costituita dai bambini, i valori medi dell'esposizione giornaliera per chilo di peso corporeo sono estremamente bassi (Allegato II: Tabelle 3 – 5), avendo valori compresi tra $1,35 \cdot 10^{-9}$ e $4,55 \cdot 10^{-8}$ ng TEQ per chilo di peso corporeo, con una probabilità del 3,05% - 0,44% di superare un valore limite, pari a $0,1 \cdot 10^{-6}$ nelle zone di produzione di Rimini e Milano che presentano il maggior rischio tra quelle esaminate (Allegato II: Figura 3). Tra le zone in cui l'esposizione è più alta si annoverano la zone di Milano per i PCB diossino simili e quella di Rimini per i composti non diossino simili. Tra i congeneri sono comunque molto più rappresentati i composti non diossino simili per i quali l'esposizione media nei bambini varia tra 0,0014 e 0,0036 ng per chilo di peso corporeo al giorno, arrivando a superare 0,019 ng per chilo di peso al giorno in un 5% della popolazione e nelle aree di produzione più contaminate (Allegato II: Figura 4).

Sulla base di questi dati il modello permette di stimare che il numero di nuovi casi di cancro attribuibili al consumo di latte alimentare contaminato da PCB sia insignificante, essendo in media compreso tra 2 casi ogni 100 milioni e 2 casi ogni miliardo di individui (Allegato II: Tabella 6 e Figura 5). Analizzando gli estremi delle distribuzioni, cioè le situazioni meno probabili, si arriva a stimare un rischio massimo di 2 – 6 casi ogni 100 milioni di individui con una probabilità del 5% nelle zone di Milano e Rimini. E' doveroso precisare che la popolazione nelle aree di distribuzione del latte prodotto in queste zone è probabilmente meno di un decimo dei 100 milioni utilizzati come ordine di grandezza per la stima e che la probabilità è influenzata anche dall'incertezza dei dati e che perciò il dato relativo a Rimini va valutato in conseguenza della minore quantità di dati raccolti.

Nella Tabella 7 (Allegato II) sono riportati i descrittori statistici della presenza dei diversi congeneri PCB rilevati nel latte AQ.

Latte Biologico

Il modello mostra che il contenuto in PCB nel latte prodotto nella zona di Bologna è sostanzialmente sovrapponibile a quello del latte AQ con valori medi per i congeneri non diossino simili pari a 0,11 ng/kg (valore 5 percentile superiore pari a 0,37 ng/kg) e per i congeneri diossino simili pari a 0,0045 (valore 5 percentile superiore pari a 0,0076 ng/kg) (Allegato II: Figura 1 e Tabelle 1-2). Nel latte pastorizzato i valori sono pari a 0,008 ng/kg per i congeneri diossino simili e 0,139 ng/kg per quelli non diossino simili (Allegato II: Figura 2). Anche per il latte biologico il numero relativamente basso di campioni analizzati incide sui livelli d'incertezza per cui si stima che nel latte pastorizzato si possa avere una concentrazione pari a 0,5 ng/kg di PCB non diossino simili con una probabilità del 4,45% (valore prossimo a quello osservato per il latte AQ prodotto nella stessa zona) ma che la probabilità di avere latte con concentrazione di PCB diossino simili ad una concentrazione pari a 0,01 ng/kg è stimata essere il 33,44%.

Nella Tabella 8 (Allegato II) sono riportati i descrittori statistici della presenza dei diversi congeneri PCB rilevati nel latte di tipo biologico.

Il panel scientifico incaricato dall'EFSA di analizzare il rischio dei PCB non diossino simili nella dieta ha stimato che in Europa l'assunzione media giornaliera varia tra 15 e 45 ng/kg di peso corporeo e per quanto riguarda la concentrazione di PCB non diossino simili nel latte i dati indicati sono corrispondenti ad un valore medio di 10,7 ng/g di grasso che, stimato esser sulla media del campione pari ad 1,6 g/100 g, porta ad un valore di 0,017 ng/kg, il quale si

mostra sovrapponibile ai dati da noi analizzati (tra 0,002 e 0,038 ng/kg) (EFSA, 2005). Da questi dati come dai nostri emerge che il contributo del latte nell'esposizione ai PCB è relativamente limitato rispetto ad altri alimenti.

Una Benchmark Lower Dose (limite di confidenza 95% inferiore) pari a 1 µg di PCB totali/g di lipidi per gli effetti neurologici e immunologici è la dose inferiore che è associata ad un'incidenza del 5% di effetti neurologici ed immunitari conseguenti all'esposizione perinatale ai PCB. Per raggiungere questo livello sarebbe necessaria un'ingestione di circa 10 ng/kg di peso corporeo al giorno di PCB non diossino simili (EFSA, 2005) che a raffronto con la quantità di PCB ingeriti con il latte anche nella categoria bambini che ne consuma maggiormente, è un quantitativo irrilevante dell'ordine di migliaia di volte inferiore ed anche a fronte dell'esposizione più alta (limite di confidenza 95% superiore nelle zone più a rischio) arriva a rappresentare una quantità 500 volte più piccola di quella in grado di produrre tali effetti.

5.4 Conclusioni

Relativamente ai dati da noi analizzati, il rischio di cancro derivato dal consumo di latte alimentare è, anche per le fasce di età più giovani e nelle categorie più a rischio, irrilevante.

Per quanto riguarda le aflatossine, le strategie di monitoraggio messe in atto dalle aziende e gli interventi dei veterinari pubblici, in particolar modo durante il periodo di crisi dell'autunno 2003, hanno contribuito ad una efficace gestione del rischio.

Inoltre la campagna di vaccinazione contro l'epatite B messa in atto in Italia più di dieci anni fa ha sostanzialmente ridotto il rischio connesso all'assunzione di aflatossine.

Un piano di monitoraggio continuativo e ben realizzato si è dimostrato dunque molto importante come sistema di allerta e ha generato dati precisi e validi per una corretta valutazione quantitativa del rischio. I piani di monitoraggio sono fondamentali per individuare condizioni critiche, e possono quindi indirizzare l'applicazione di piani di controllo più o meno stringenti. L'attività di sorveglianza risulta quindi indispensabile per garantire l'immissione in commercio di prodotti sani e sicuri.

Bibliografia

Allcroft, R. & Carnaghan, R. B. A. (1963). Groundnuts toxicity: an examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal. *Veterinary Record*, 75, 259-63.

Asplin, F. D. & Carnaghan, R. B. A. (1961). The toxicity of certain groundnut meal for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens. *Veterinary Record*, 73, 1215-1219.

ATSDR (2001). Interaction Profile for Persistent Chemicals found in Breast Milk, Appendix E: Background Information for PCBs. U.S. Department of Health and Human Services-Public Health Service-Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Atuma, S. S., Hansson, L., Johnsson, H., Slorach, S., de Wit, C-A., Lindstrom, G. (1998). Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and dioxins in human milk from Swedish mothers. *Food Additives and Contaminants*; 2: 142-150.

Battacone, G., Nudda, A., Palomba, M., Pascale, M., Nicolussi, P., Pulina, G. (2005). Transfer of Aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *Journal of Dairy Science*, 88: 3063-3069.

Bonanni, P., Pesavento, G., Bechini, A., Piscione, E., Mannelli, F., Berucci, C., Lo Nostro, A., (2003). Impact of universal vaccination programmes on the epidemiology of hepatitis B: 10 years of experience in Italy. *Vaccine*, 21: 685-691.

Bozza Marrubini, M., Ghezzi Laurenzi, R., Uccelli, P. (1998). *Intossicazioni acute-meccanismi, diagnosi e terapia*. Organizzazione Editoriale Medico Farmaceutica, Milano.

Brambilla, G., De Filippis, S.P., Di Domenico, A. (2006). Linee guida per la prevenzione della contaminazione da PCDD, PCDF e sostanze diossina-simili in azienda agricola. Istituto Superiore di Sanità. Rapporti ISTISAN 06/5.

Carvajal, M., Bolonos, A., Rojo, F., Mendez, I. (2003). Aflatoxin in pasteurized and ultrapasteurized milk with different fat content in Mexico. *Journal of Food Protection*. 66 (10): 1885-1892.

Creppy, E. E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127: 19-28

Da Villa, G., Piccinino, F., Scolastico, C., Fusco, M., Piccinino, R., Sepe, A. (1998). Long-term epidemiological survey of hepatitis B virus infection in a hyperendemic area (Afragola, southern Italy): results of a pilot vaccination project. *Research in virology*, 149: 263-270.

DEFRA (Department for Environment, Food and Rural Affairs) (2002). Dioxins and dioxin-like PCBs in the UK environment. Consultation document. London: Defra Publications.

Disponibile all'indirizzo: <http://www.scotland.gov.uk/library5/environment/dpcb.pdf>

Deml, E. (2000) I bifenili policlorurati, in: Greim H., Deml E. *Tossicologia*. Zanichelli, Bologna: 324-330.

Dyke, P.H., Stratford, J. Updated inventory of PCB releases in the UK (1998). *Organohalogenes*; 36: 365-368.

EFSA (2005). Opinion of The Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to the presence of non Dioxin-Like Polychlorinated Biphenyls (PCB) In Feed And Food (Question N° EFSA-Q-2003-114) Adopted on 8 November 2005. *The EFSA Journal*; 284: 1-137, 2005.

van Egmond, H.P. (1989) Aflatoxin M1: Occurrence, toxicity and regulation. In: van Egmond, H.P., ed., *Mycotoxins in Dairy Products*, London, Elsevier Applied Science, pp. 11–55.

EPA (1996). PCBs: Cancer Dose-Response Assessment and Application to Environmental Mixtures. National Center for Environmental Assessment Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC. EPA/600/P-96/001F

EU SCF (2001). Opinion of the Scientific Committee on Food on the Risk Assessment of Dioxins and Dioxin-like PCBs in Food. Update based on new scientific information available since the adoption of the SCF Opinion of 22 November 2000. Adopted on 30 May 2001 (CS/CNTM/DIOXIN/20 final)

European Commission, Health and Consumer Protection Directorate- General (2000). Reports on tasks for scientific cooperation. Assessment of dietary intake of dioxins and related PCBs by the population of EU Member States. Disponibile all'indirizzo: http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/library/pub/pub08_en.pdf

Focant, J-F., Pirard, C., Massart, A-C., De Pauw, E. (2003). Survey of commercial pasteurised cows' milk in Wallonia (Belgium) for the occurrence of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and coplanar polychlorinated biphenyls. *Chemosphere*; 52: 725-733.

Food Safety, Authority of Ireland.(2002). Investigation on PCDDs/PCDFs and several PCBs in milk samples. Disponibile all'indirizzo: http://www.fsai.ie/surveillance/food_safety/chemical/Dioxins_milk_survey.pdf

Galvano, F., Galofaro, V., Galvano, G. (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products: A worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59: 1079–1090.

Hallikainen, A., Vartiainen, T. (1997). Food control surveys of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans and intake estimates. *Food Additives and Contaminants*; 14 (4): 355-366.

Hartley, R. D., Nesbitt, B. F. & O'Kelly, J.(1963). Toxic metabolites of *Aspergillus flavus*. *Nature (London)*, 198, 1056-1058.

Harvey, R.B., Phillips, T.D., Ellis, J.A., Kubena, L.F., Huff, W.E., Petersen, H.D. (1991). Effects on aflatoxin M₁ residues in milk by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to aflatoxin-contaminated diets of dairy cows. *American Journal of Veterinary Research*, 52: 1556–1559.

Heeschen, W. H., Burt, R., Bluthgen, A. (1997). Introduction and background information, in: International Dairy Federation, *Monograph on Residues and Contaminants in Milk and Milk Products*. International Dairy Federation, Bruxelles: 1-4.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1993). Aflatoxins in: Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Volume 56.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1993). Aflatoxins in: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Volume 82.

ISTAT (2002). Indagine multiscopo sulle famiglie. “Condizioni di salute e ricorso ai servizi sanitari”. Anni 1999-2000. Disponibile all’indirizzo: <http://www.istat.it>

ISTAT (2004). 14° Censimento Generale della Popolazione e delle Abitazioni. Disponibile all’indirizzo: <http://dawinci.istat.it>

JECFA (1999). Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 884, WHO, Geneva.

JECFA (2001 a). Aflatoxin M1 in “Safety evaluation of certain mycotoxins in food”, Food Additive Series N° 47/FAO Food and Nutrition Paper 74.

JECFA (2001 b). Evaluation of certain micotoxin in food. Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 906, WHO, Geneva (2002).

Kalantzi, O.I., Alcock, R.E., Johnston, P.A., Santillo, D., Stringer, R.L., Thomas, G.O., Jones, K.C. The global distribution of PCBs and organochlorine pesticides in butter. *Environmental Science and Technology*; 35: 1013-1018, 2001.

Kuiper-Goodman, T. (1999). Approaches to the risk analysis of mycotoxins in the food supply. *Food, nutrition and agriculture*, 23: 10-16.

Disponibile all'indirizzo: www.fao.org/docrep/X2100T/X2100t00.HTM

Minervini, F., Visconti, A., Bottalico, A. (2001). Presenza di AFM1 in formaggi dell'Italia meridionale”. *Industrie alimentari*. XL: 513-516.

Nesbitt, B. F., O'Kelly, J., Sargeant, K. & Sheridan, A. (1962). Aspergillus Flavus and Turkey X Disease: toxic metabolites of Aspergillus flavus. *Nature* (London), 195, 1062-1063.

Pettersson, H. (1997) Carry-over of aflatoxin from feedingstuffs to milk. Swedish derogations from EC legislation in the area of feedingstuffs. Report 2. Undesirable substances and products. Stockholm: Ministry of Agriculture, pp. 23–27.

Piretti, M.V., Gaiti, A. (1990). *Chimica propedeutica alla biochimica*. Casa Editrice Ambrosiana, Milano.

Renwick, A. G. (2004). Risk characterisation of chemicals in food. *Toxicology Letters*, 149: 163-176.

Saegerman, C., Pussemier, L., Huyghebaert, A., Scippo, M.L., Derkvens, D. (2006). On-farm contamination of animals with chemical contaminants. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*; 25 (2): 655-673.

Schrenk, D. (2004). Non-dioxin-like PCBs as carcinogens and tumour promotor in rodents. In: Ris4-EFSA: Risk Assessment of Non-Dioxin-Like PCB. Disponibile all'indirizzo: <http://dioxin2004.abstract-management.de/overview/s115.htm>.

Stroffolini, T., Bianco, E., Szklo, A., Pernacchia, R., Bove, C., Colucci, M., Coppola, R.C., D'Argenio, P., Lo Palco, P., Parlato, A., Ragni, P., Simonetti, A., Zotti, C, Mele, A. (2003). Factors affecting the compliance of the antenatal hepatitis B screening programme in Italy. *Vaccine*: 21, 1246-1249.

Turrini, A., Saba, A., Perrone, D., Cialda, E., D'Amicis, A. (2001). Food Consumption Patterns in Italy: the INN-CA Study 1994-96. *European Journal of Clinical Nutrition*, 55: 571-588.

UNEP (United Nations Environmental Program) (1999). Guidelines for the Identification of PCBs and Materials Containing PCBs. UNEP Chemicals.

Veldman, V.A., Meijs, J.A.C., Borggreve, G.J. & Heeres van der Tol, J.J. (1992) Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. *Animal Production*, 55, 163–168.

WHO, International Program on Chemical Safety (IPCS) (1992). Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Polychlorinated Terphenyls (PCTs) Health and Safety Guide. *Health and Safety Guide n°68*; World Health Organization, Geneva.

WHO (1998). Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI). WHO Consultation May 25-29 1998, Geneva, Switzerland

Appendice Normativa

Decreto del Presidente della Repubblica n. 54 del 14 gennaio 1997.

Decreto Legislativo 22 maggio 1999, n°209.

Direttiva 96/23/CE della Commissione del 29 aprile 1996.

Direttiva 96/59/CE della Commissione del 16 settembre 1996

Direttiva 2002/70/ CE della Commissione del 26 luglio 2002.

Direttiva 2003/57/ CE della Commissione del 17 giugno 2003

Ministero della Sanità. Dipartimento Alimenti Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria.
PNR 2001. Piano Nazionale dei Residui negli animali e in alcuni prodotti di origine animale in applicazione del Decreto Legislativo 4 agosto 1999, n. 336, 2001.

Regolamento CE n. 466/2001 del 8 marzo 2001.

Regolamento CE n. 2375/2001 del 29 novembre 2001.

Regolamento CE n. 178/2002 del 28 gennaio 2002.

Regolamento CE n. 853/2004 del 29 aprile 2004.

Regolamento CE n. 199/2006 del 3 febbraio 2006.

ALLEGATO I

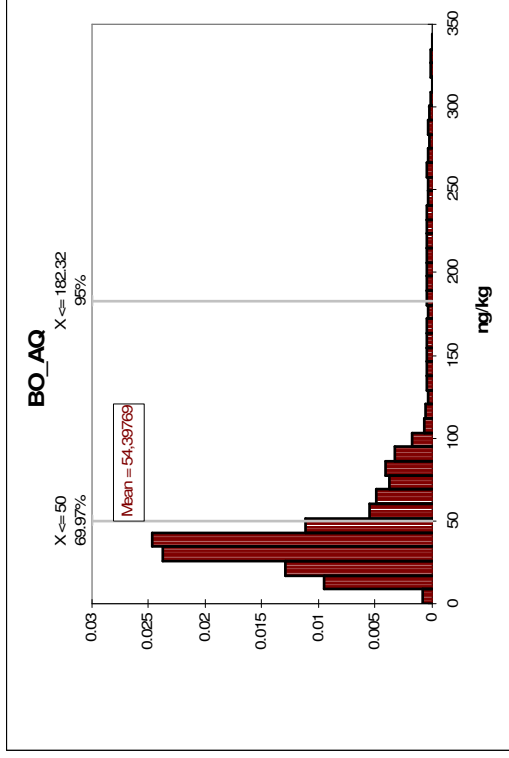
Figure e Tabelle relative alla contaminazione del latte da aflatoxine

- Figura 1 - Distribuzione della concentrazione di aflatoxina M1 nel latte nella zona di produzione Emilia Romagna**
- Figura 2 - Distribuzione della concentrazione di aflatoxina M1 nel latte nella zona di produzione Centro Sud (Lazio e Puglia)**
- Figura 3 - Distribuzione della concentrazione di aflatoxina M1 nel latte nella zona di produzione Nord Ovest (Lombardia e Piemonte)**
- Figure 4 - 7 Esposizione di bambini ed adolescenti all'aflatoxina M1**
- Figura 8 – Aumento dell'incidenza di casi di epatocarcinoma conseguente alla contaminazione del latte con aflatoxina M1**
- Tabella 1 –Livelli di contaminazione del latte prodotto in Emilia Romagna, esposizione giornaliera dei bambini all'aflatoxina M1 ed incremento dei casi di epatocarcinoma**
- Tabella 2 -Livelli di contaminazione del latte prodotto nel Centro Sud, esposizione giornaliera dei bambini all'aflatoxina M1 ed incremento dei casi di epatocarcinoma**
- Tabella 3 -Livelli di contaminazione del latte prodotto nel Nord Ovest, esposizione giornaliera dei bambini all'aflatoxina M1 ed incremento dei casi di epatocarcinoma**

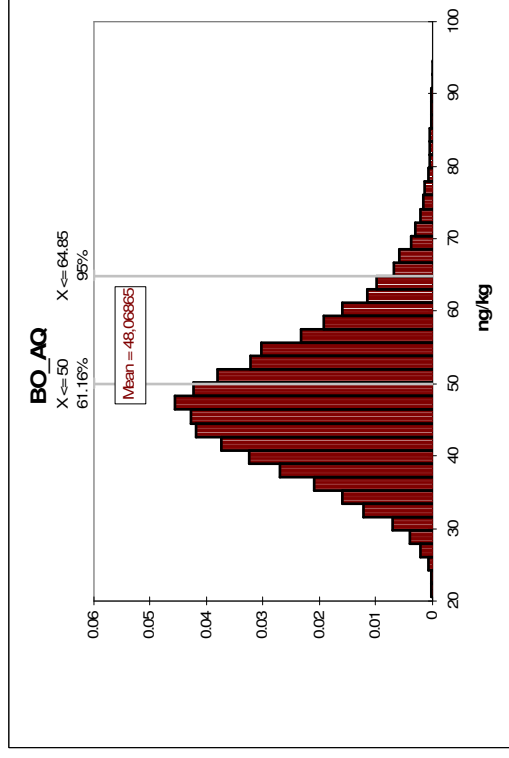
Figura 1 - Concentrazione aflattossina M1 nel latte zona di produzione Emilia Romagna

Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(a) Latte di massa AQ centrale Bologna

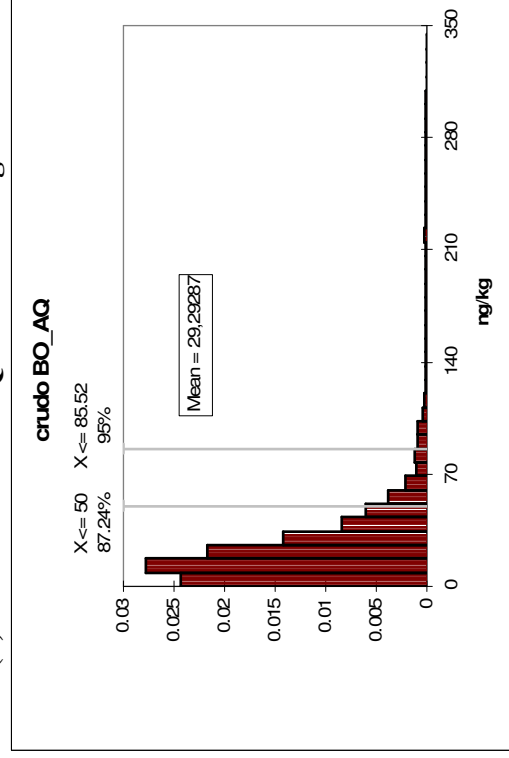


(a1) Latte pastorizzato AQ centrale Bologna

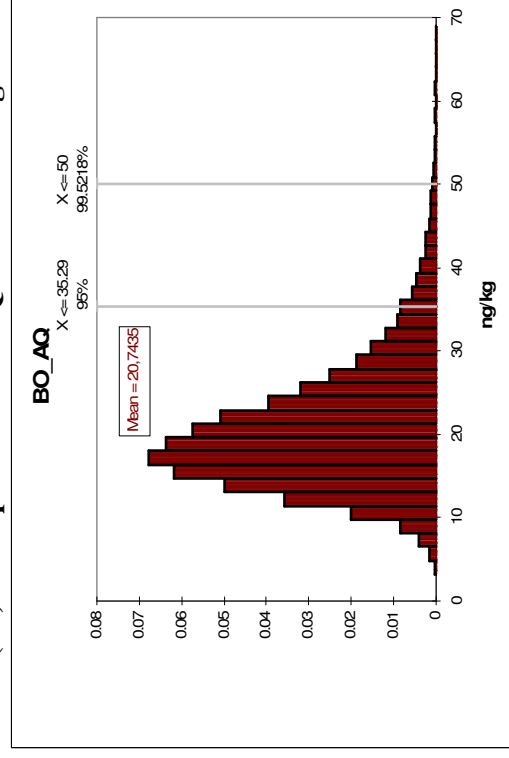


Periodo gennaio 2001- agosto 2003

(b) Latte di massa AQ centrale Bologna

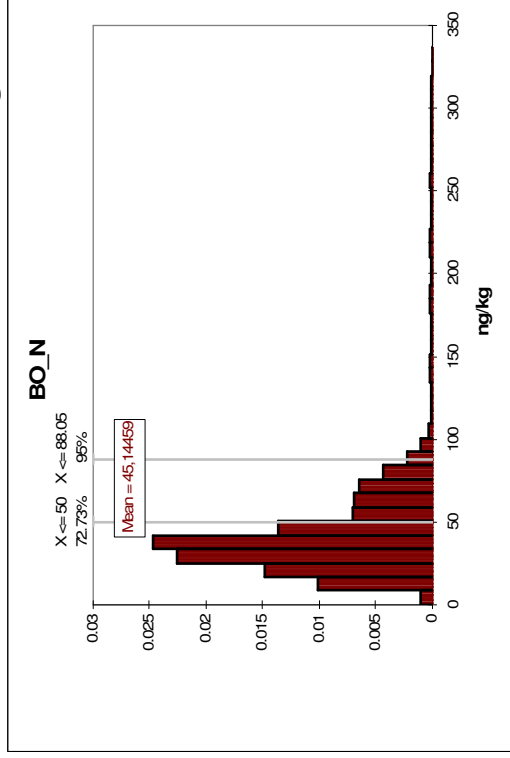


(b1) Latte pastorizzato AQ centrale Bologna

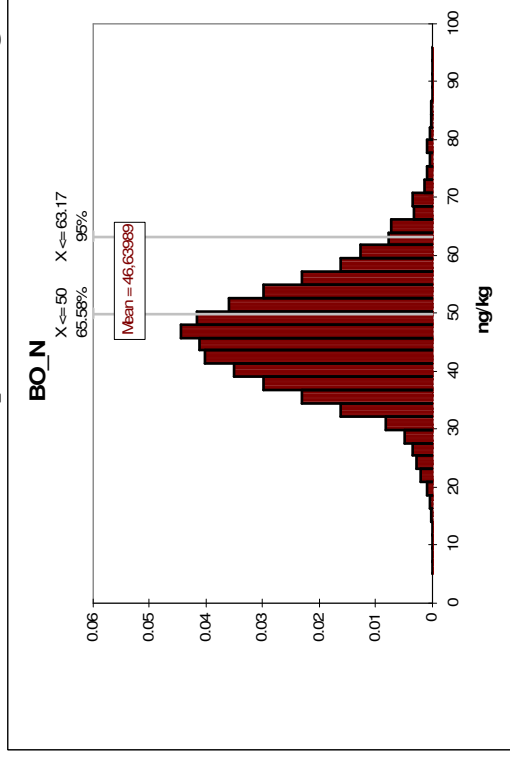


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(c) Latte di massa normale centrale Bologna

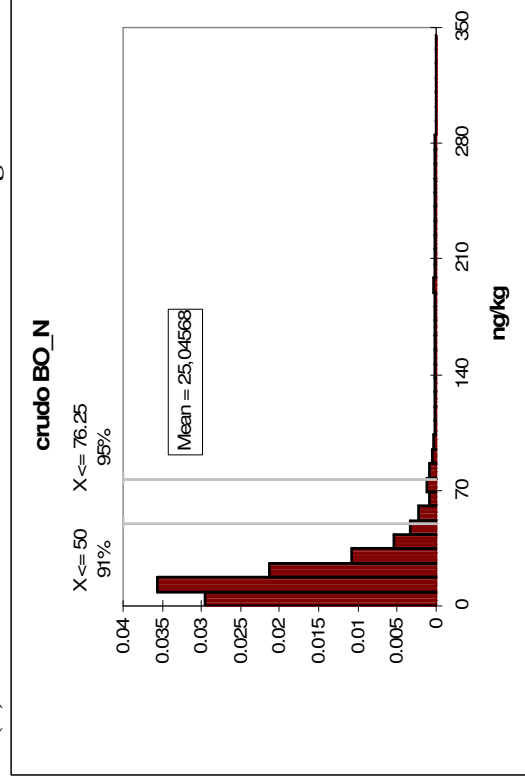


(c1) Latte Intero pastorizzato centrale Bologna

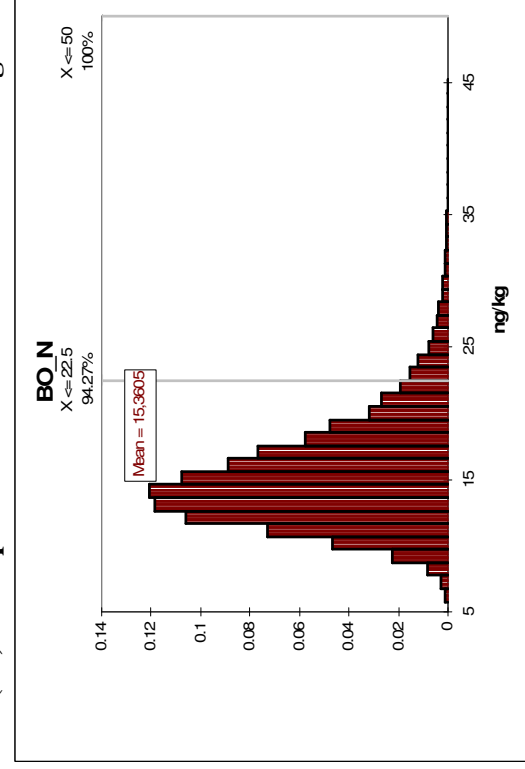


Periodo gennaio 2001- agosto 2003

(d) Latte di massa normale centrale Bologna

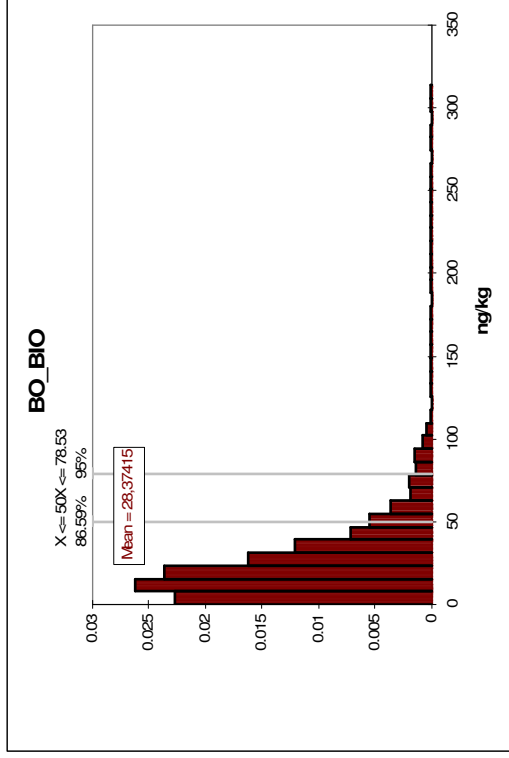


(d1) Latte pastorizzato normale centrale Bologna

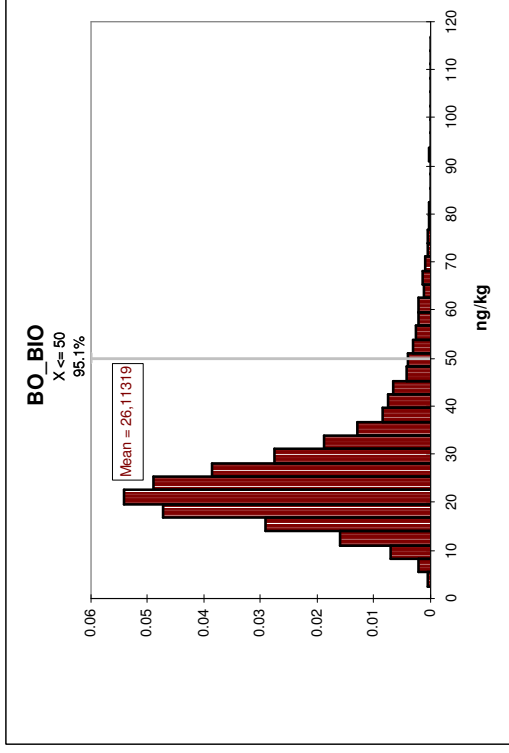


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(e) Latte di massa Biologico centrale Bologna

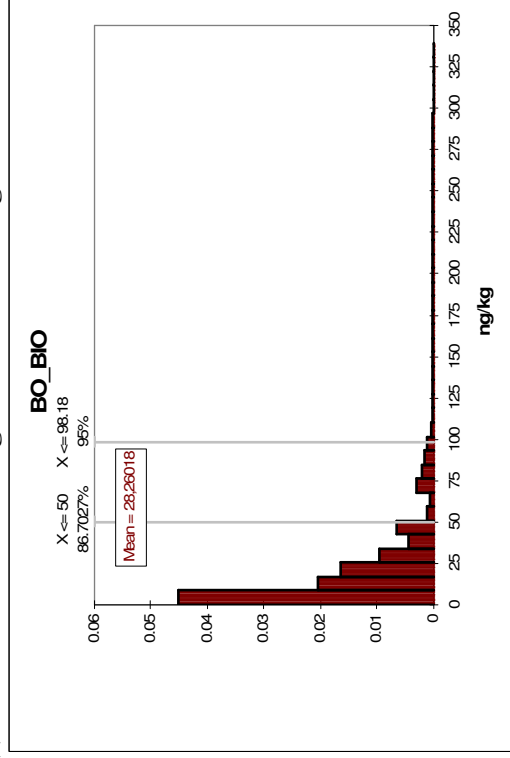


(e1) Latte intero pastorizzato Biologico centrale Bologna

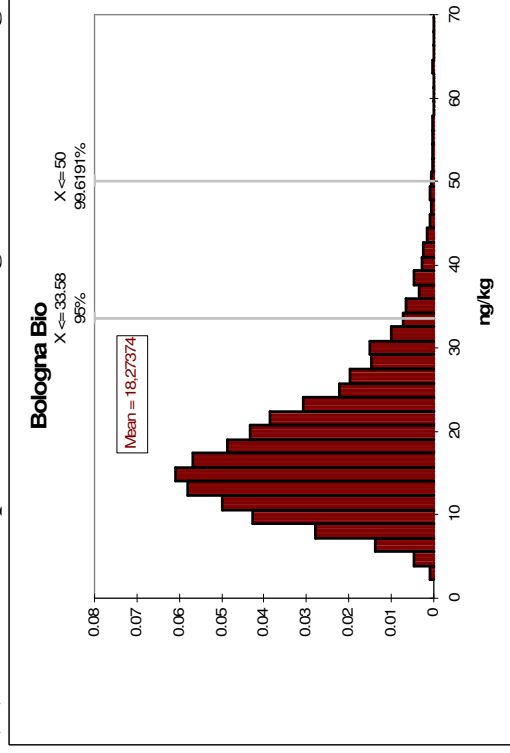


Periodo gennaio 2001- agosto 2003

(f) Latte di massa Biologico centrale Bologna

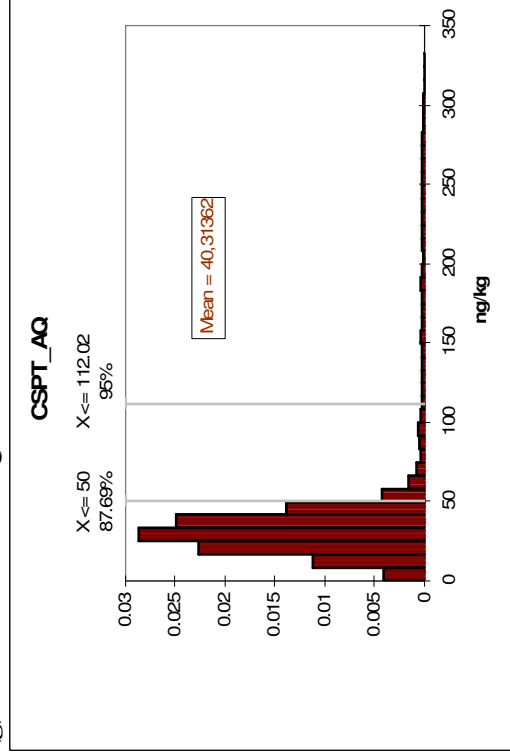


(f1) Latte intero pastorizzato Biologico centrale Bologna

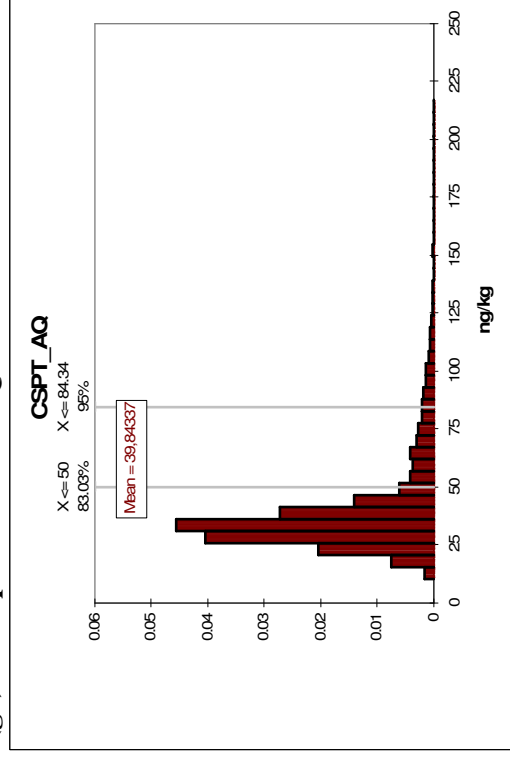


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(g) Latte di massa AQ centrale Castel S.Pietro Terme

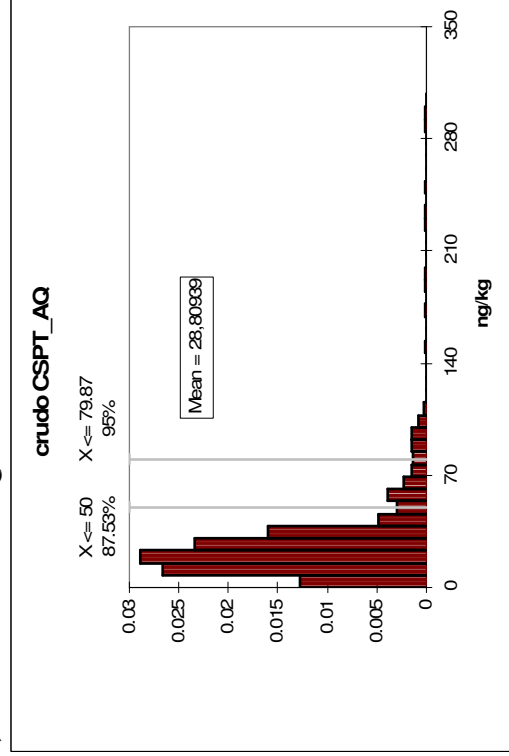


(g1) Latte pastorizzato AQ centrale C. S. Pietro Terme

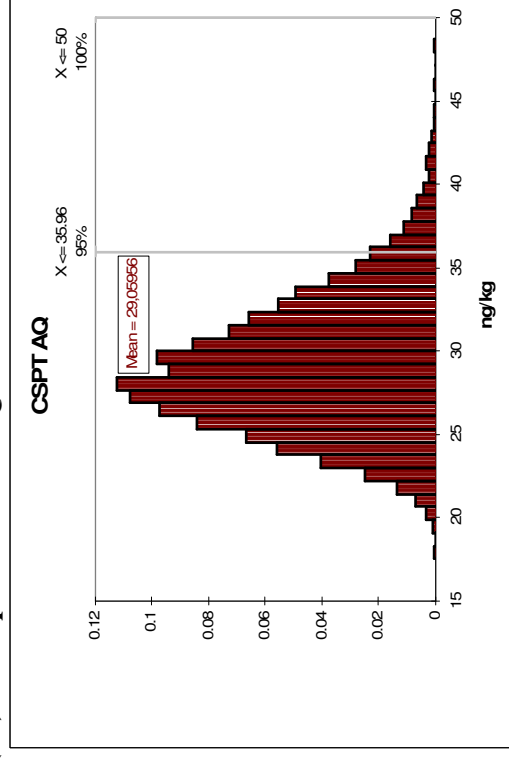


Periodo gennaio 2001- agosto 2003

(h) Latte di massa AQ centrale Castel S.Pietro Terme

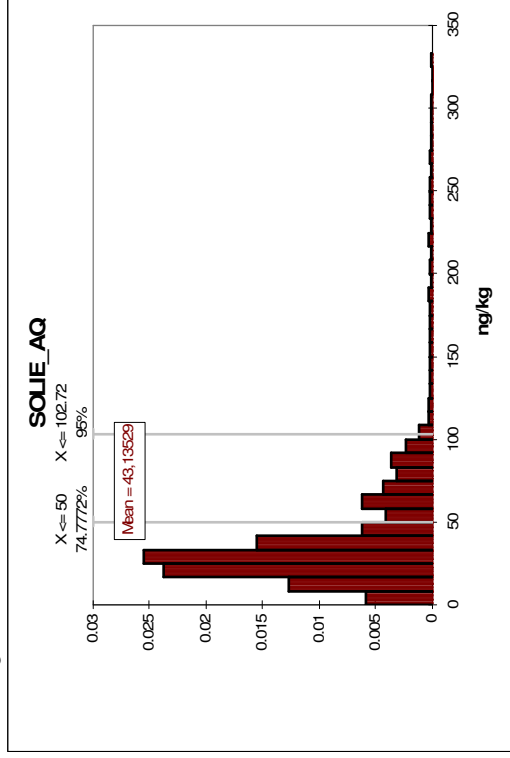


(h1) Latte pastorizzato AQ centrale Castel S.Pietro Terme

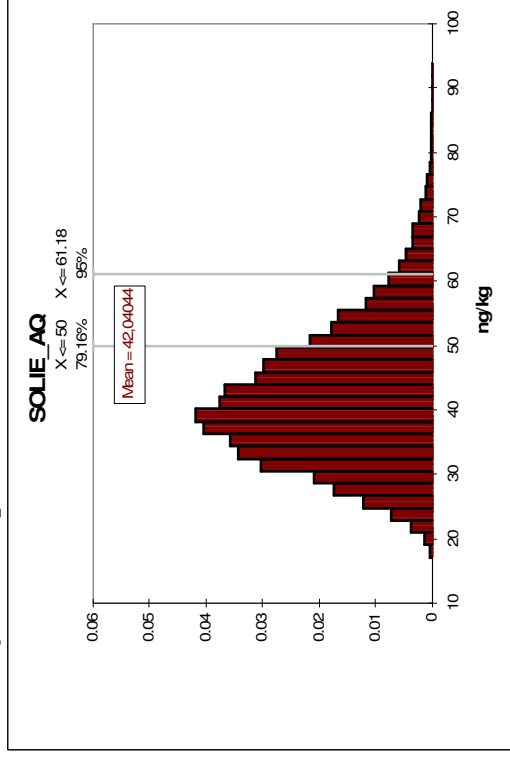


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(j) Latte di massa AQ centrale Soliera

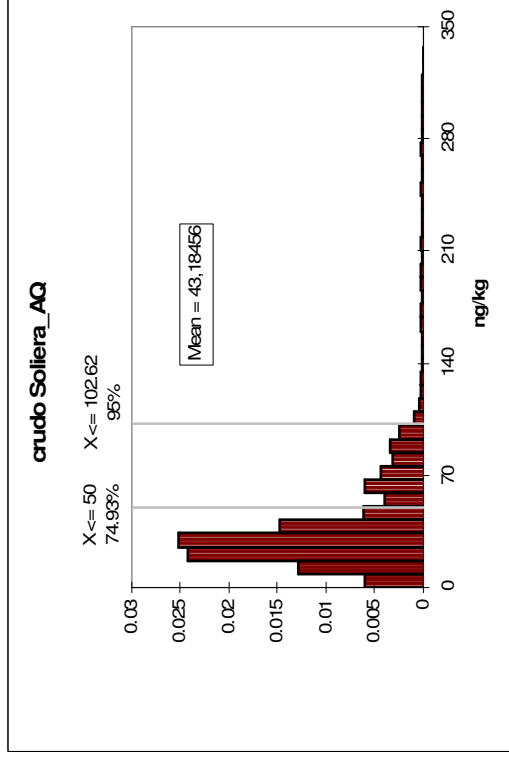


(j1) Latte pastorizzato AQ centrale Soliera

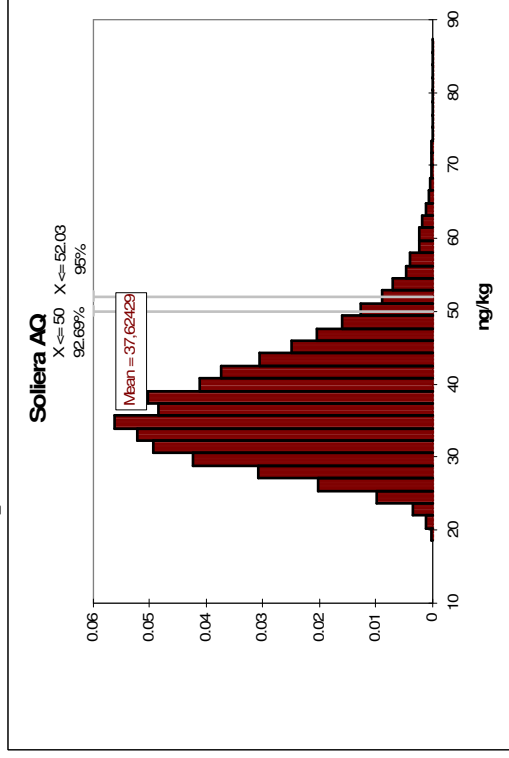


Periodo gennaio 2001- agosto 2003

(k) Latte di massa AQ centrale Soliera

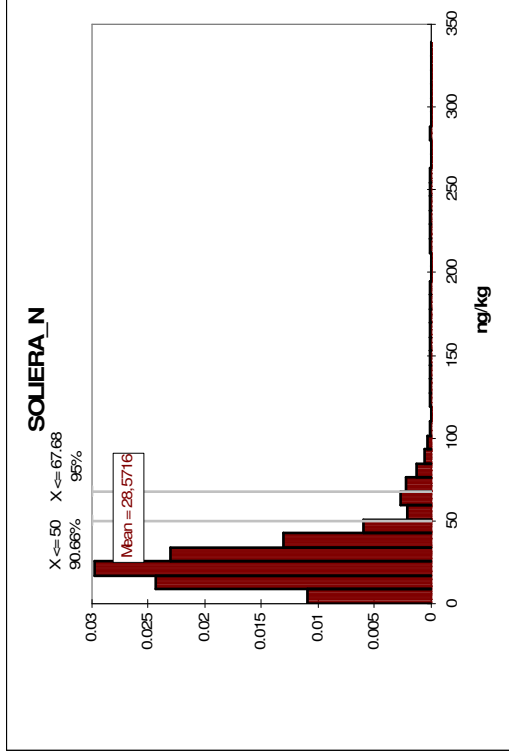


(k1) Latte pastorizzato AQ centrale Soliera

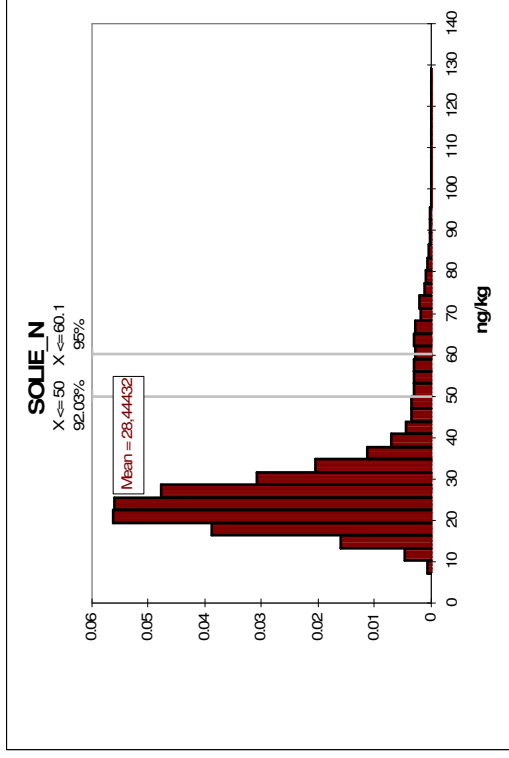


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(l) Latte di massa normale centrale Soliera

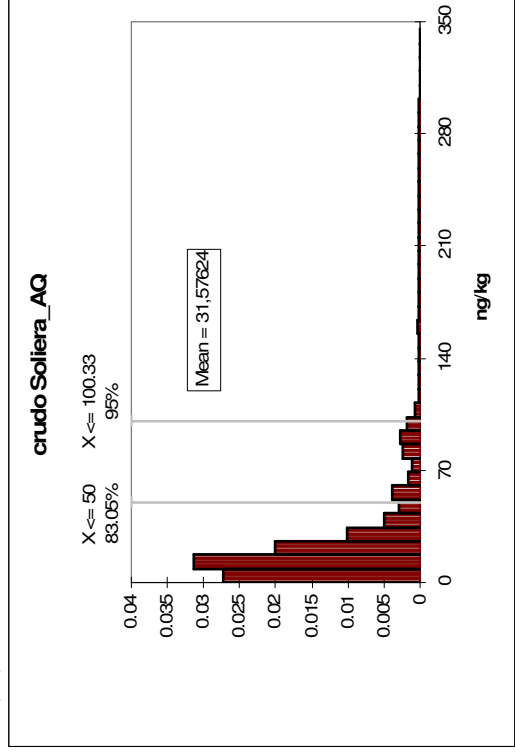


(ll) Latte pastorizzato normale centrale Soliera

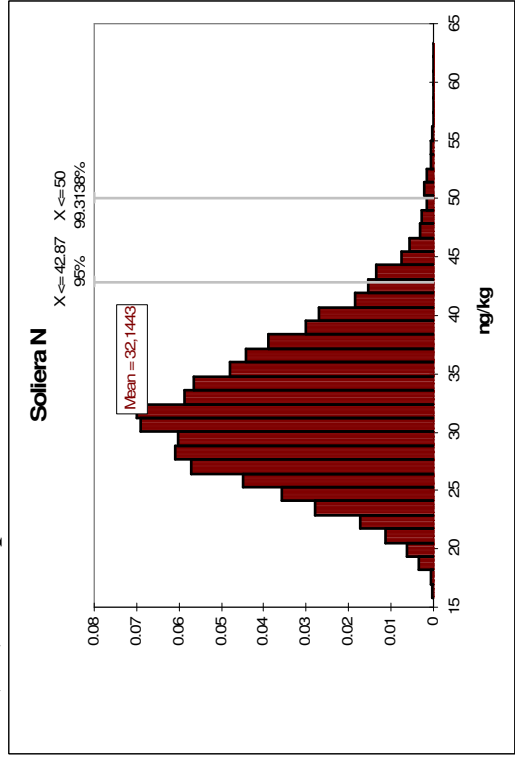


Periodo gennaio 2001- agosto 2003

(m) Latte di massa normale centrale Soliera

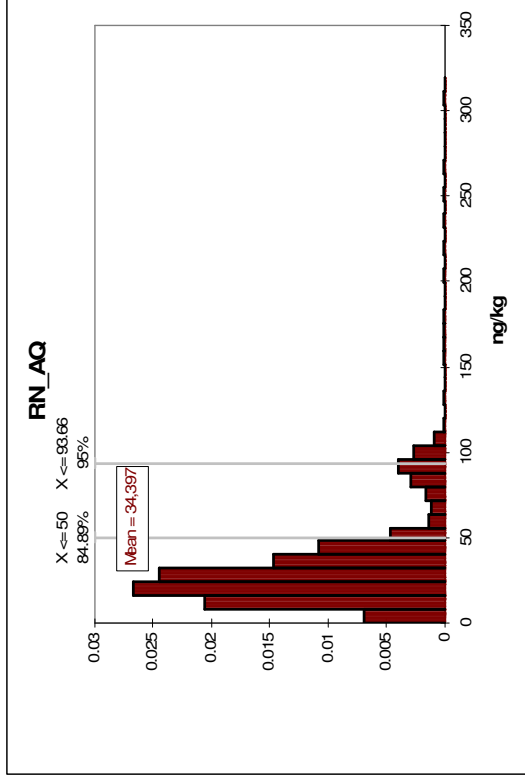


(ml) Latte pastorizzato normale centrale Soliera

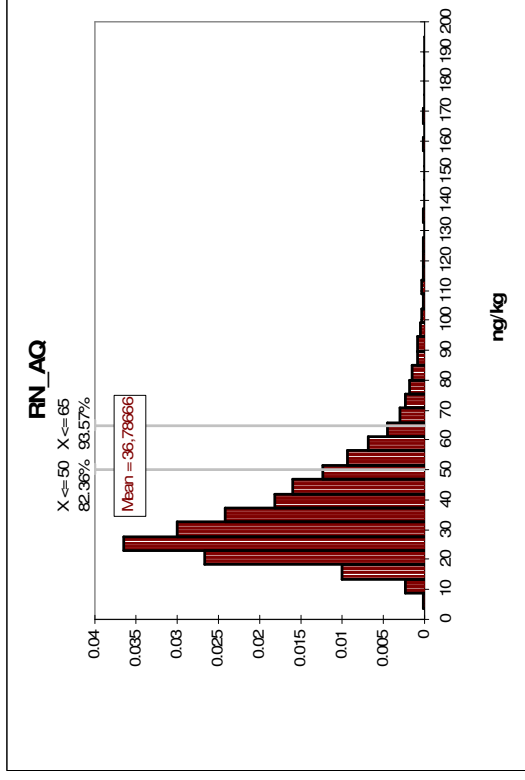


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(n) Latte di massa AQ centrale Rimini

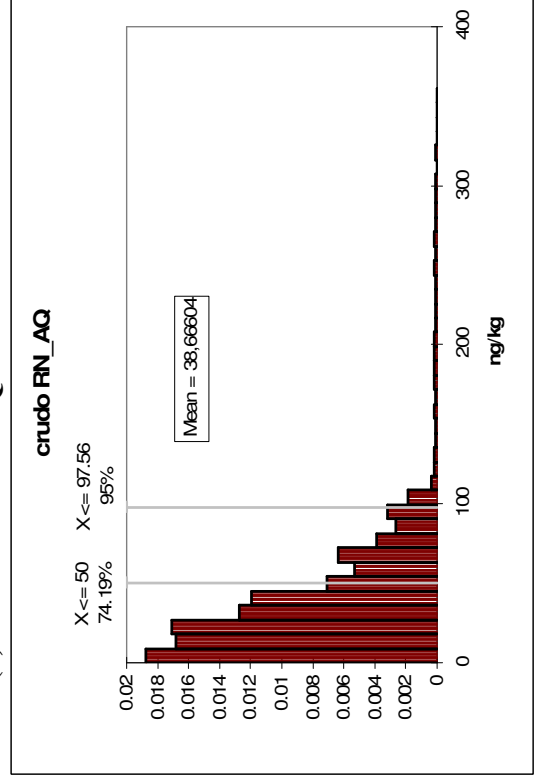


(n1) Latte pastorizzato AQ centrale Rimini

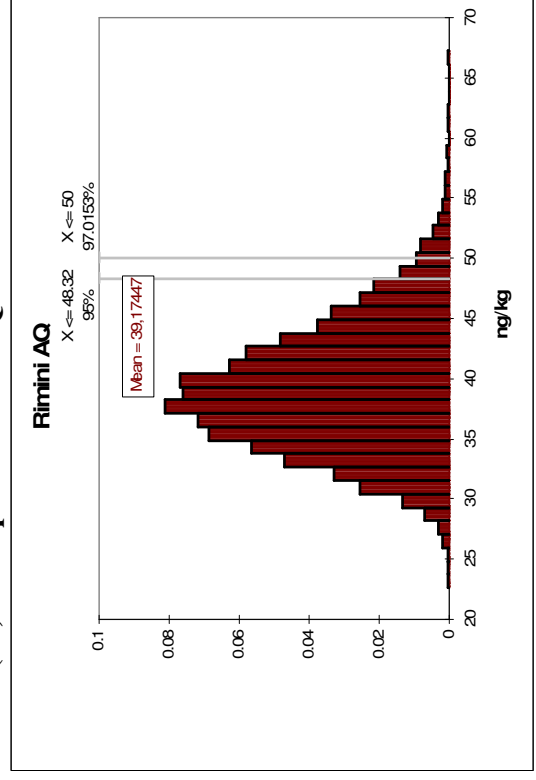


Periodo gennaio 2001- agosto 2003

(o) Latte di massa AQ centrale Rimini

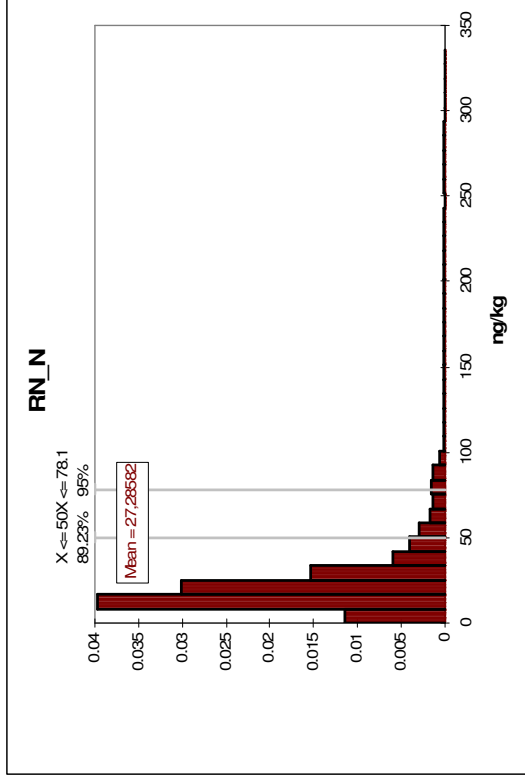


(o1) Latte pastorizzato AQ centrale Rimini

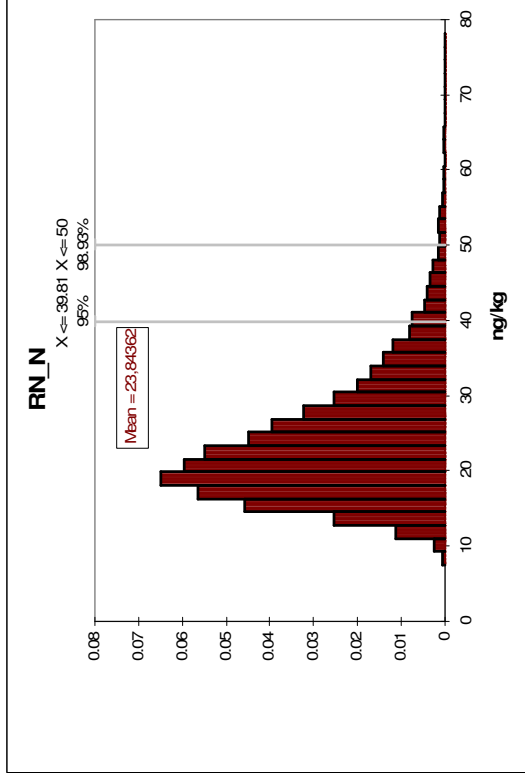


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(p) Latte di massa normale centrale Rimini

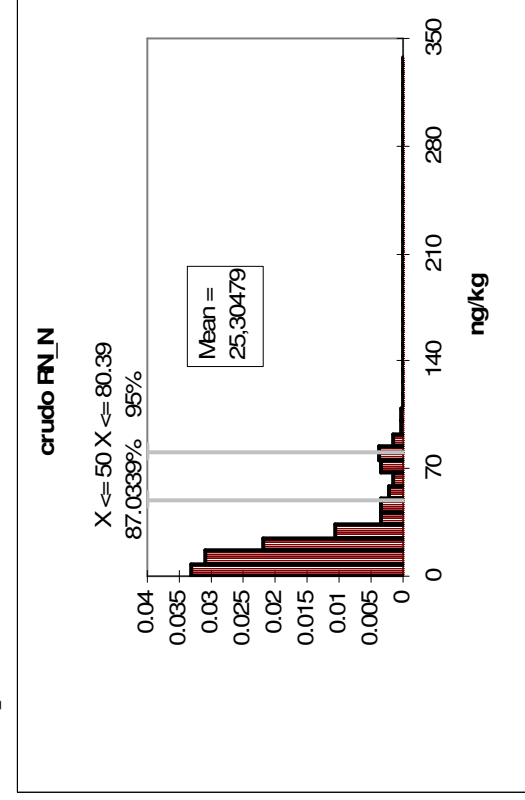


(p1) Latte pastorizzato normale centrale Rimini



Periodo gennaio 2001- agosto 2003

(q) Latte di massa normale centrale Rimini



(q1) Latte pastorizzato normale centrale Rimini

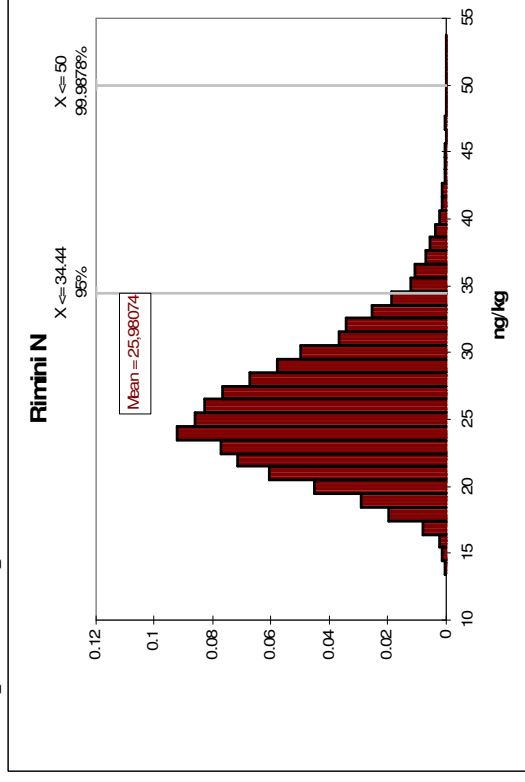
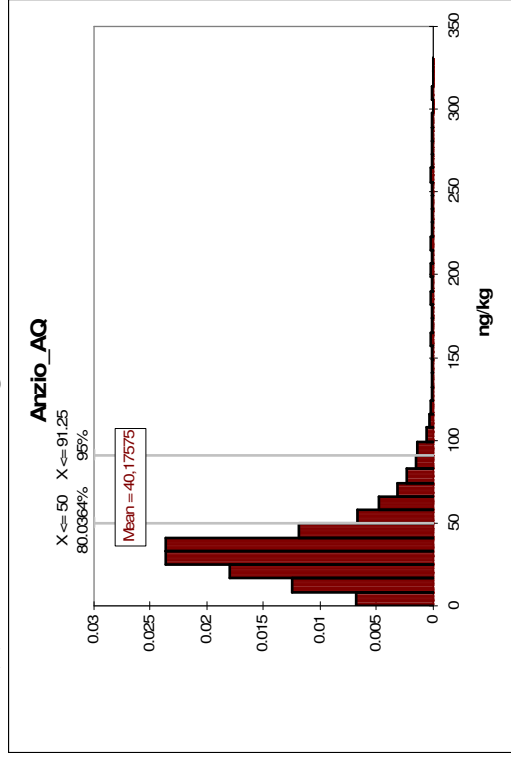


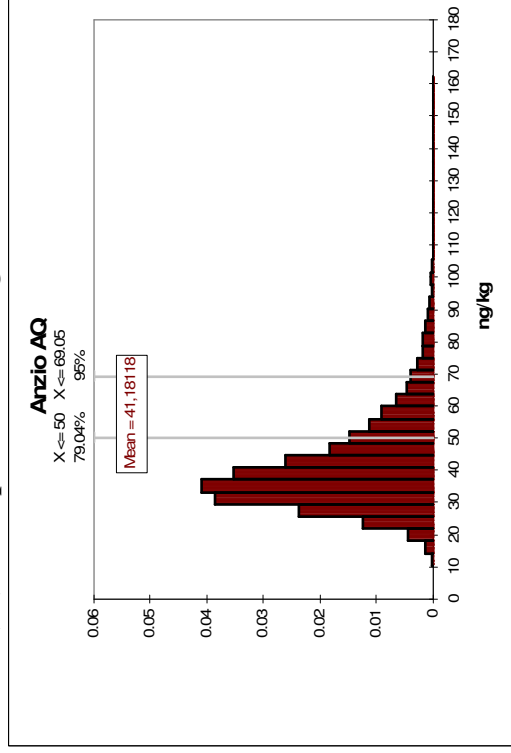
Figura 2 - Concentrazione aflattossina M1 nel latte zona di produzione Centro Sud

Periodo settembre 2003-dicembre 2004

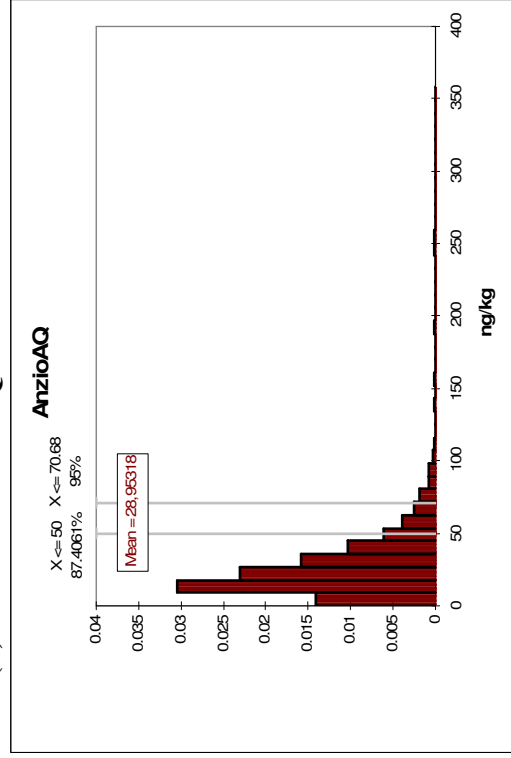
(a) Latte di massa AQ centrale Anzio



(a1) Latte pastorizzato AQ centrale Anzio

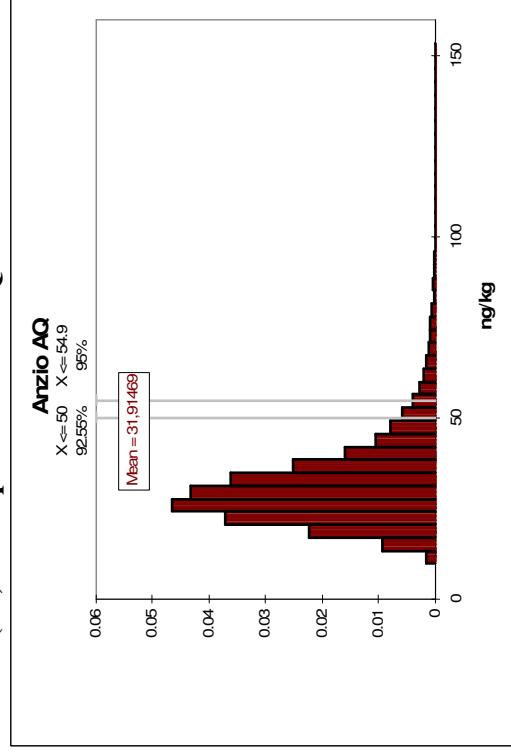


(b) Latte di massa AQ centrale Anzio



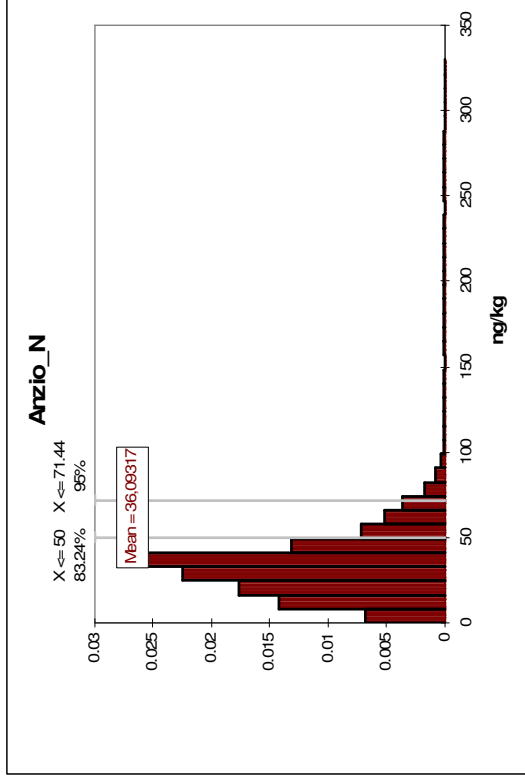
Periodo gennaio 2001 - agosto 2003

(b1) Latte pastorizzato AQ centrale Anzio

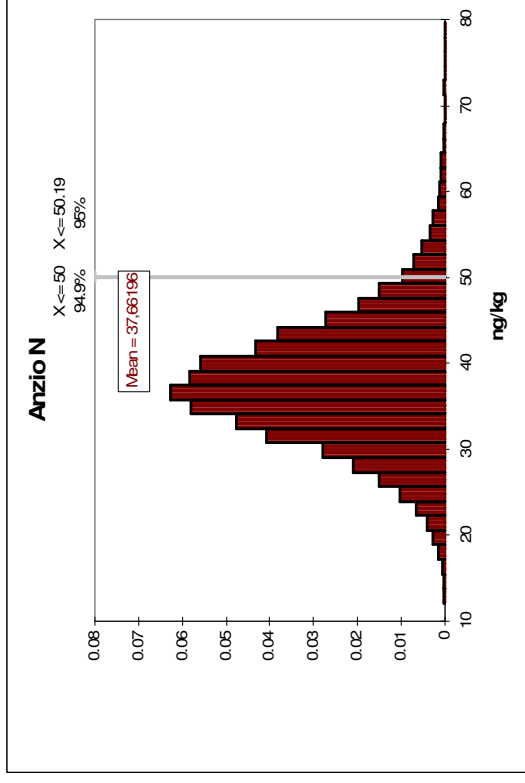


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(c) Latte di massa normale centrale Anzio

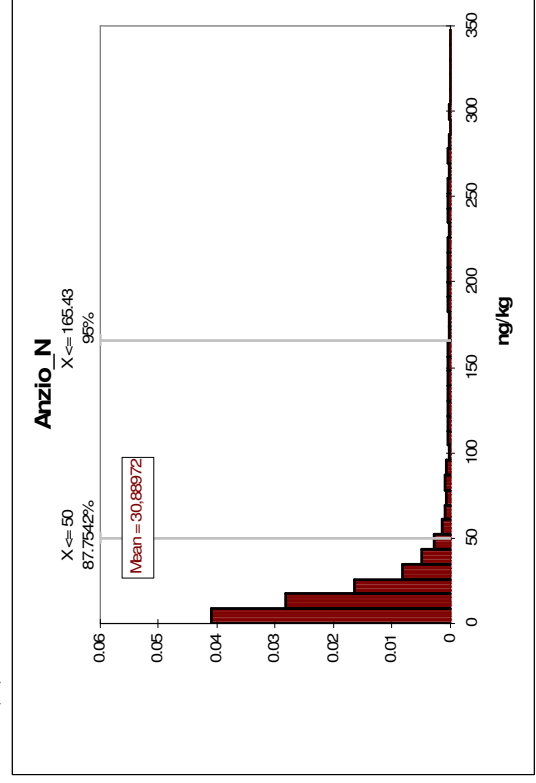


(c1) Latte pastorizzato normale centrale Anzio

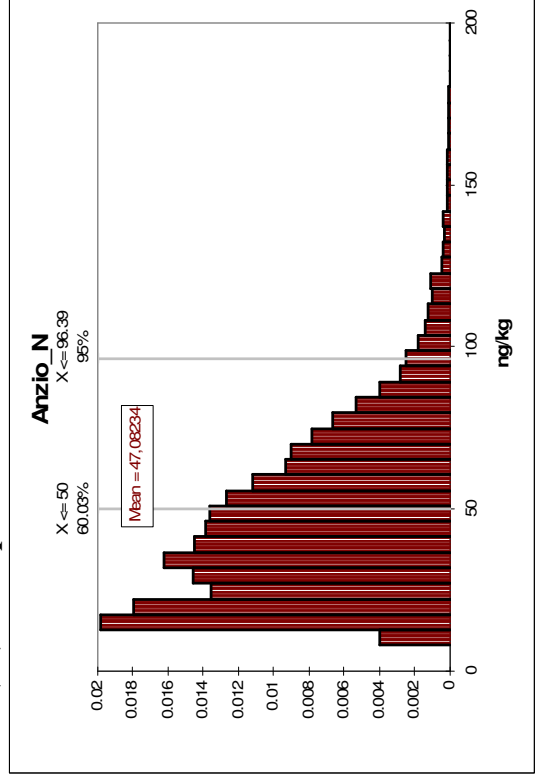


periodo gennaio 2001 – agosto 2003

(d) Latte di massa normale centrale Anzio

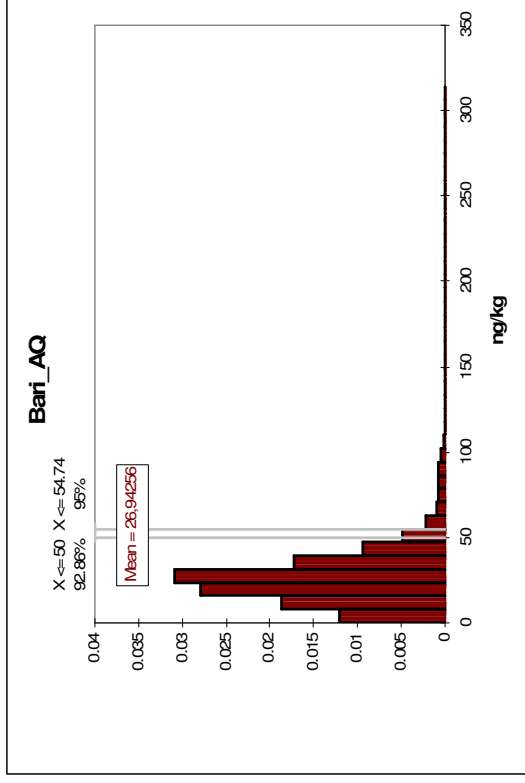


(d1) Latte pastorizzato normale centrale Anzio

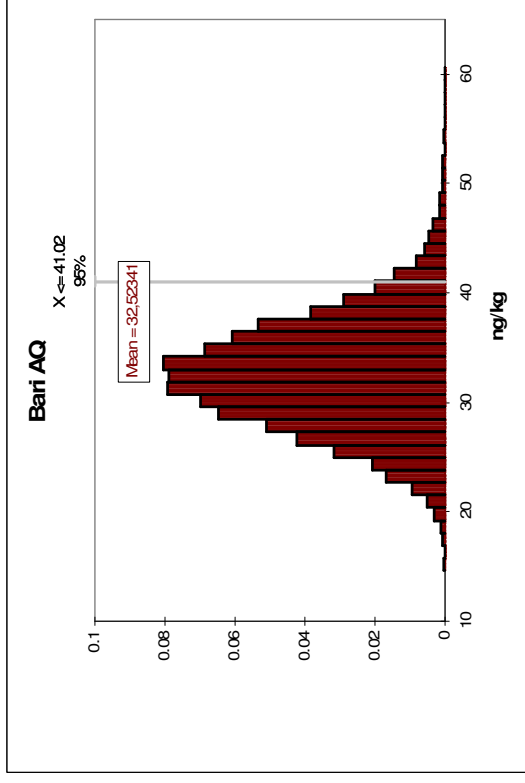


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(e) Latte di massa AQ centrale Bari

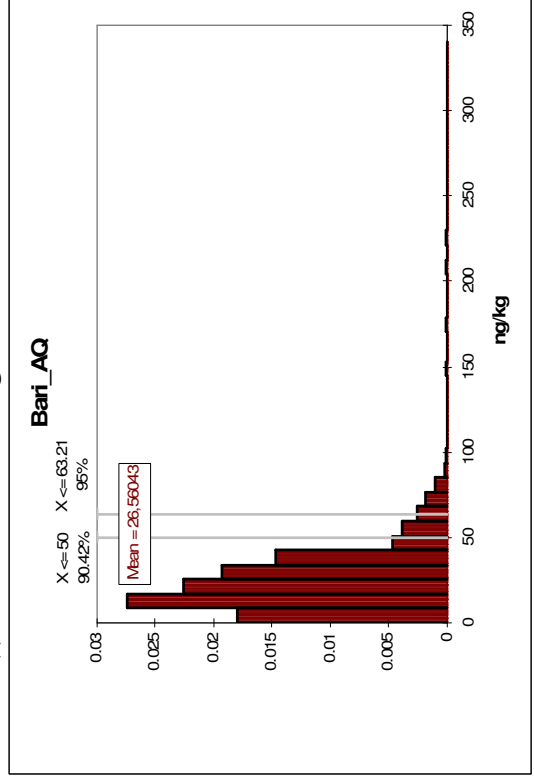


(e1) Latte pastorizzato AQ centrale Bari

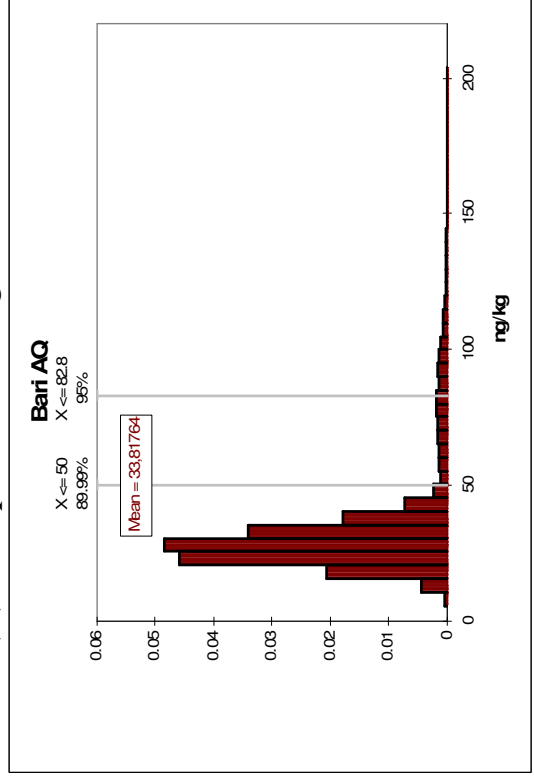


Periodo gennaio 2001 - agosto 2003

(f) Latte di massa AQ centrale Bari

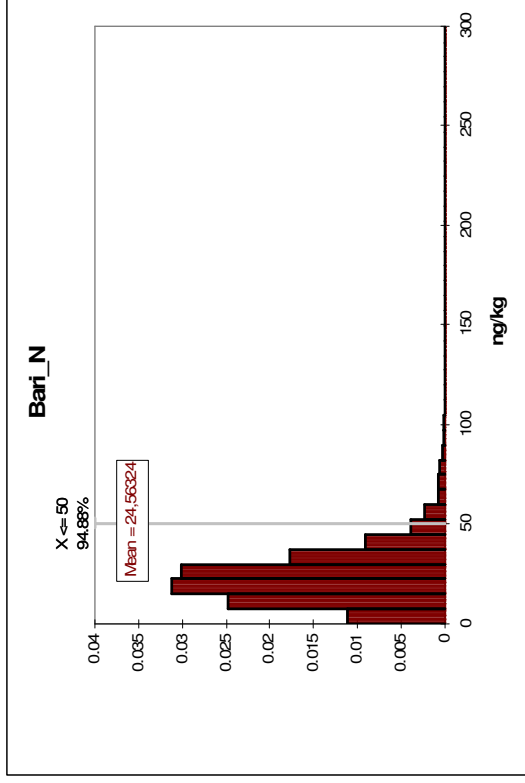


(f1) Latte pastorizzato AQ centrale Bari

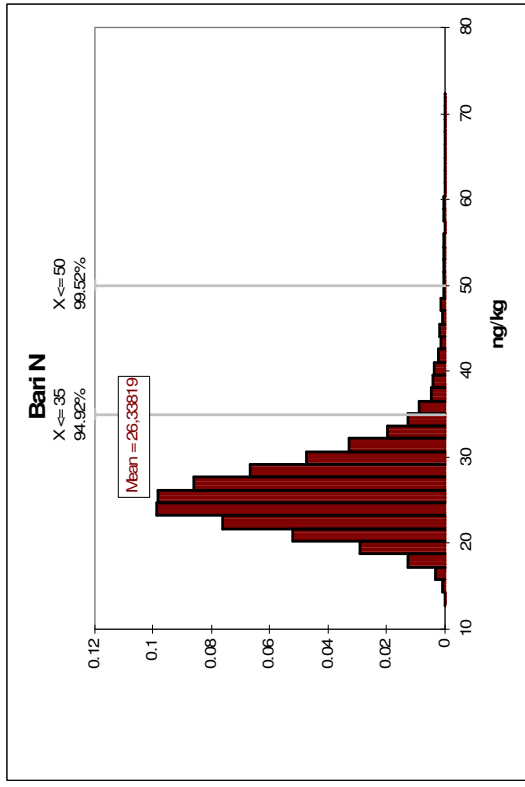


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(g) Latte di massa normale centrale Bari

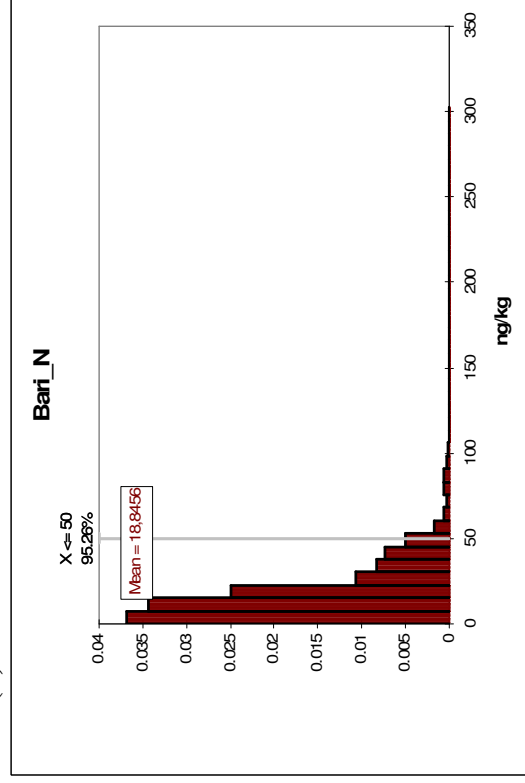


(g1) Latte pastorizzato normale centrale Bari



Periodo gennaio 2001 - agosto 2003

(h) Latte di massa normale centrale Bari



(h1) Latte pastorizzato normale centrale Bari

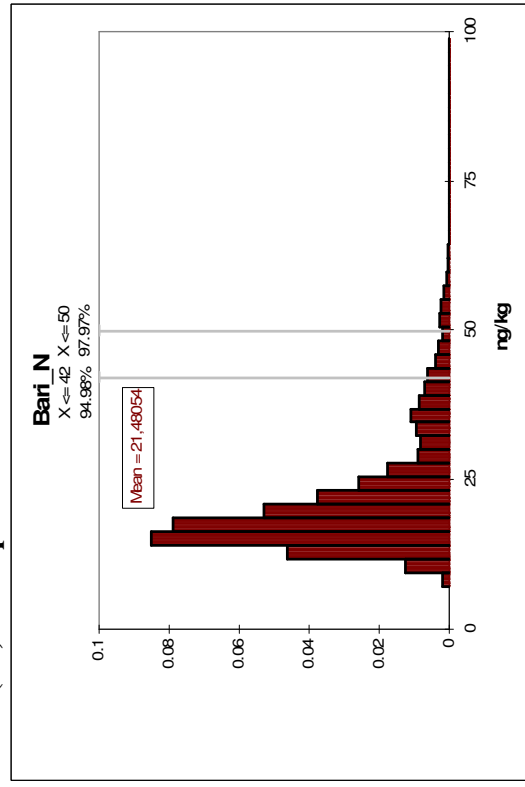
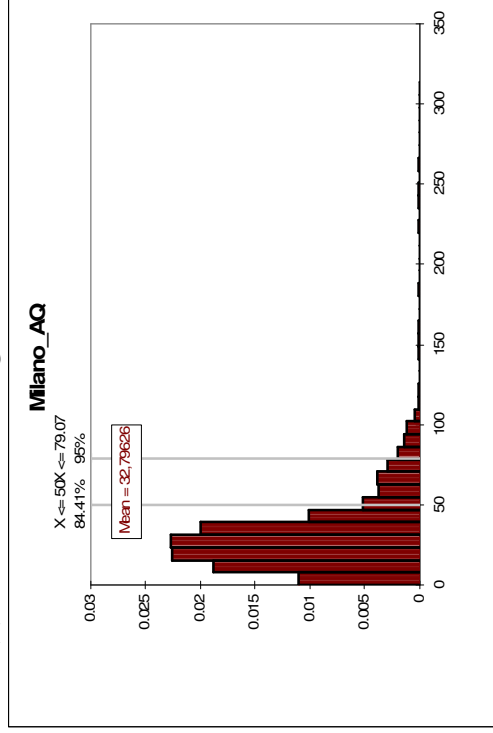


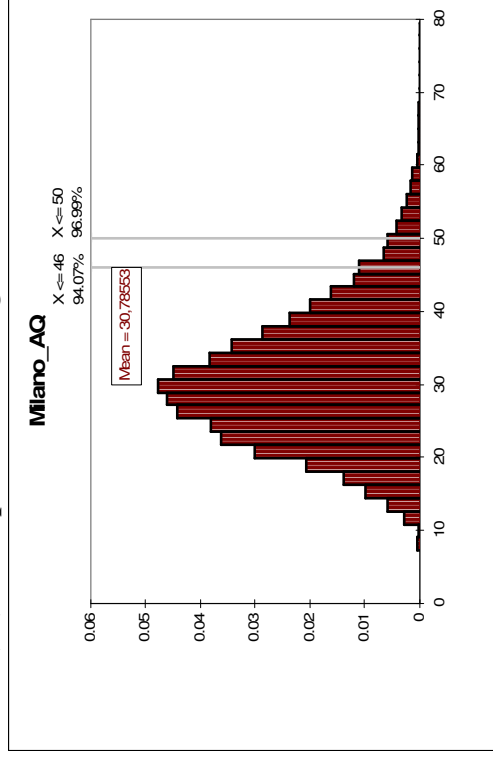
Figura 3 - Concentrazione aflatoxina M1 nel latte zona di produzione Nord Ovest

Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(a) Latte di massa AQ centrale Milano

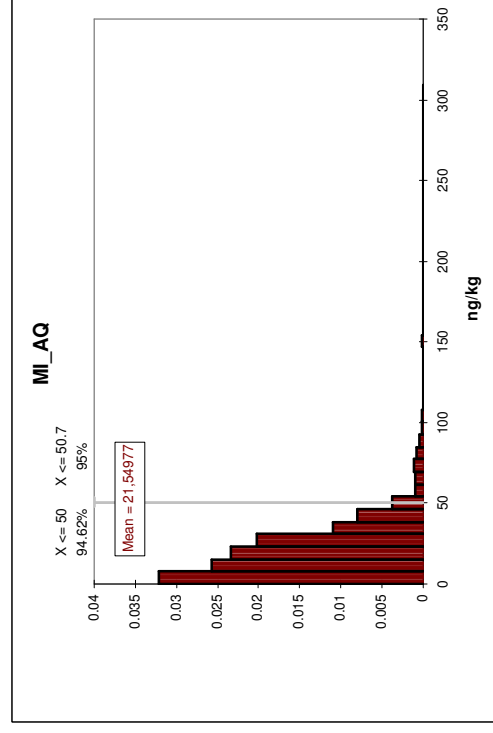


(a1) Latte pastorizzato AQ centrale Milano

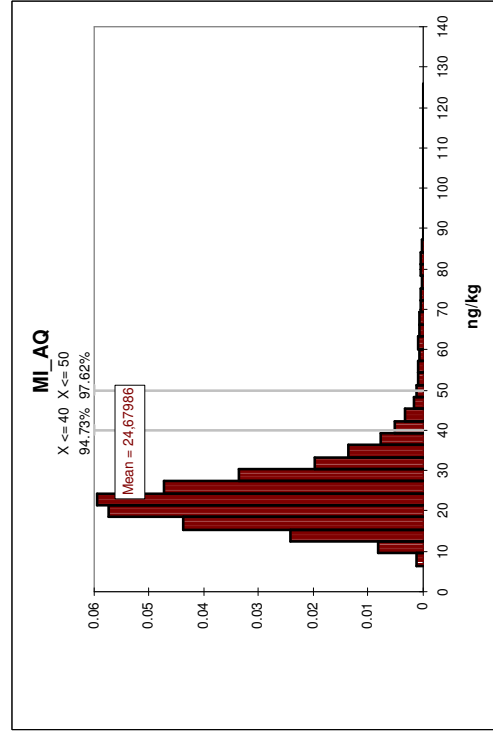


Periodo gennaio 2001 - agosto 2003

(b) Latte di massa AQ centrale Milano

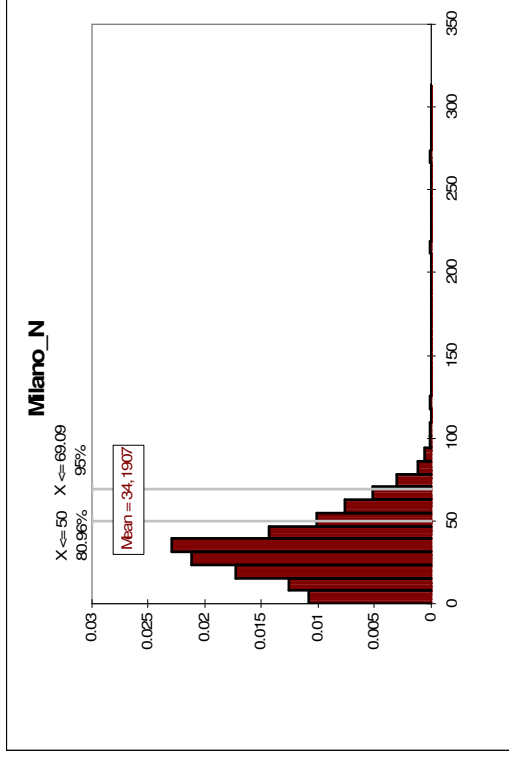


(b1) Latte pastorizzato AQ centrale Milano

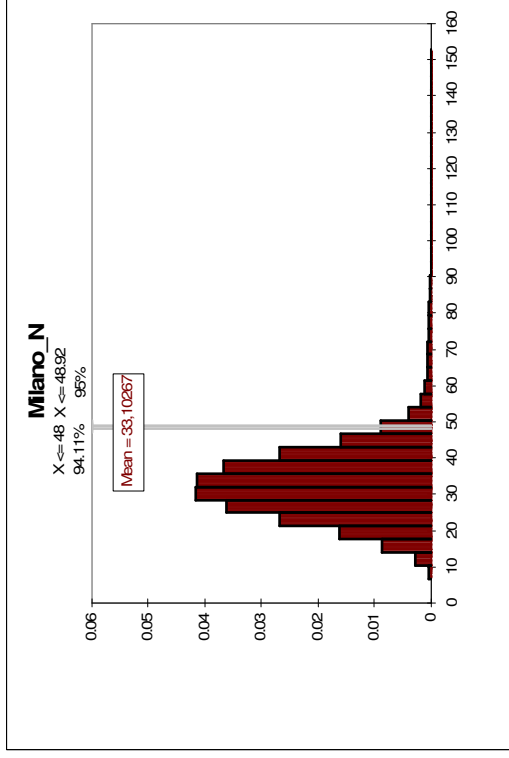


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(c) Latte di massa normale centrale Milano

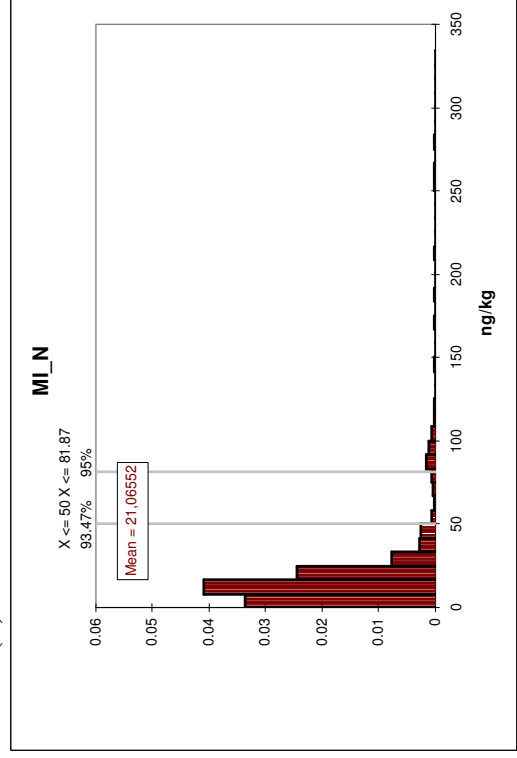


(c1) Latte pastorizzato normale centrale Milano

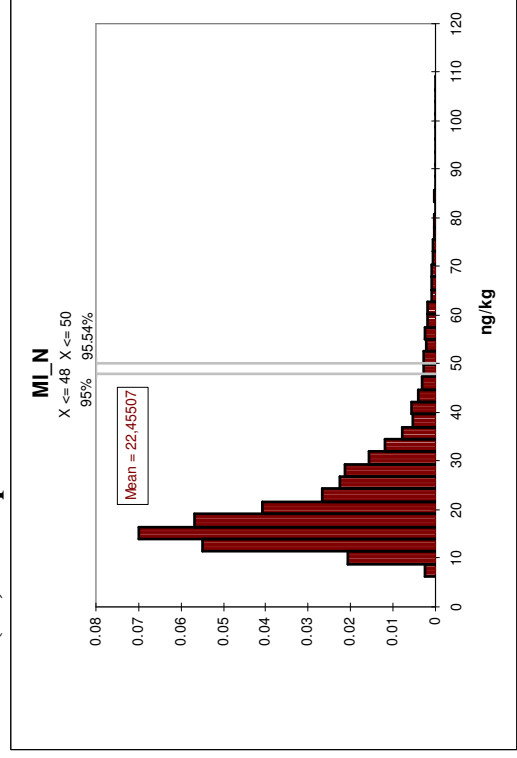


Periodo gennaio 2001 – agosto 2003

(d) Latte di massa normale centrale Milano

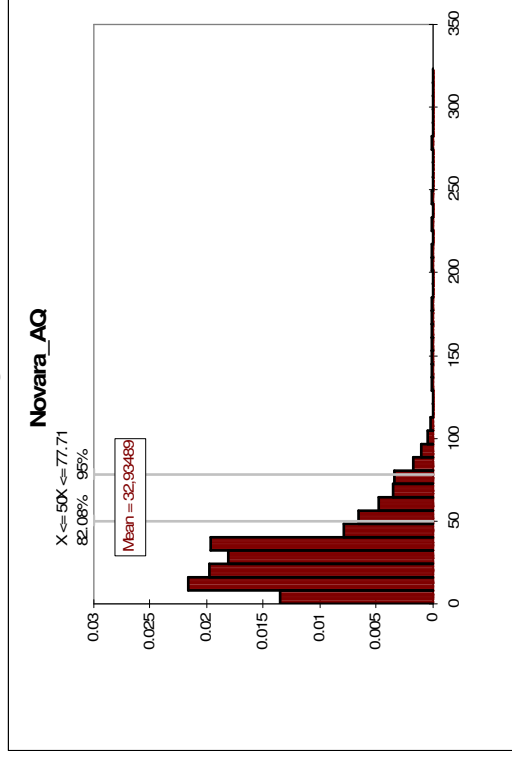


(d1) Latte pastorizzato normale centrale

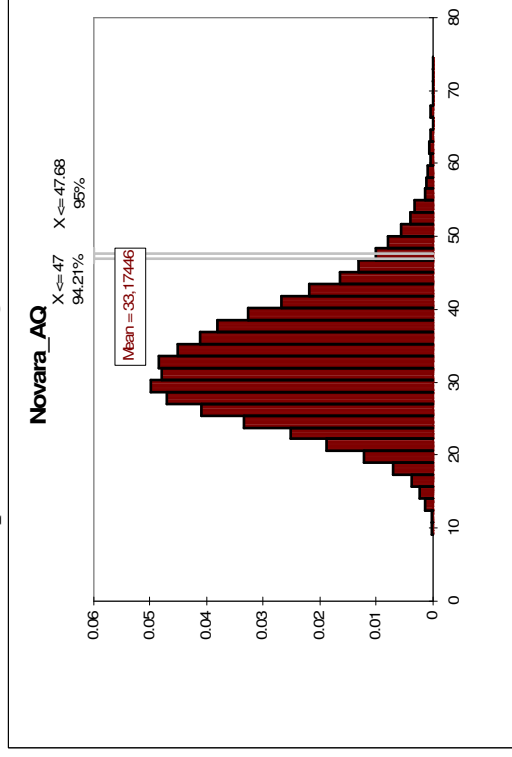


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(e) Latte di massa AQ centrale Novara

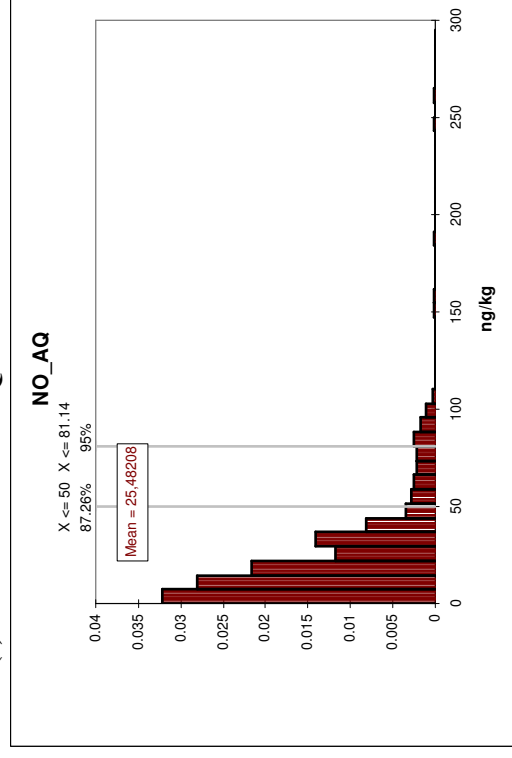


(e1) Latte pastorizzato AQ centrale Novara

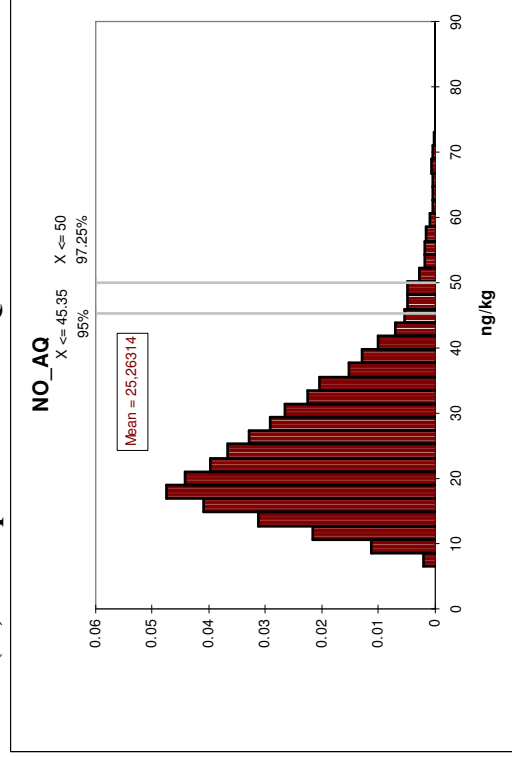


Periodo gennaio 2001 - agosto 2003

(f) Latte di massa AQ centrale Novara

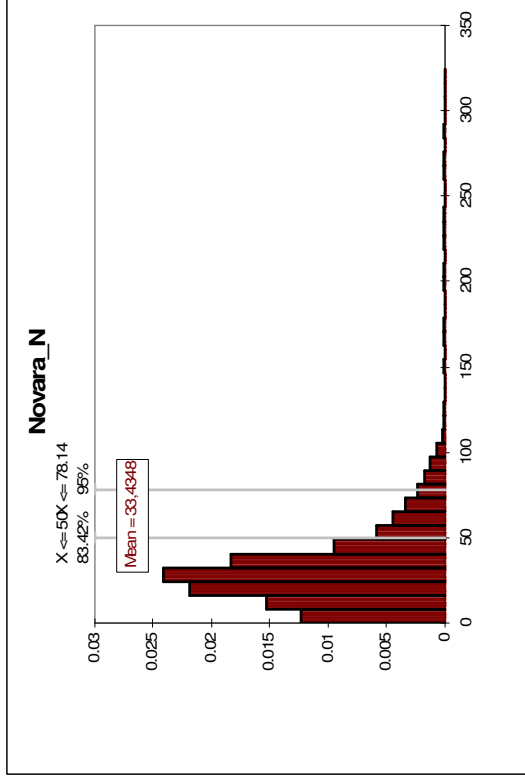


(f1) Latte pastorizzato AQ centrale Novara

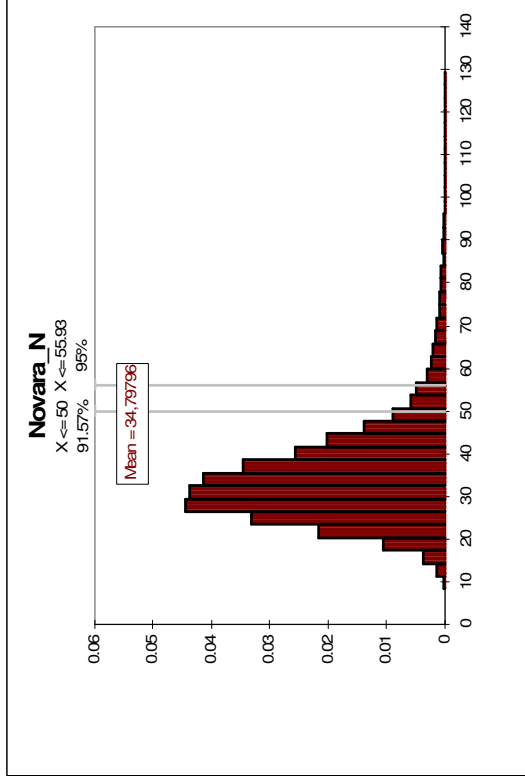


Periodo settembre 2003-dicembre 2004

(g) Latte di massa normale centrale Novara

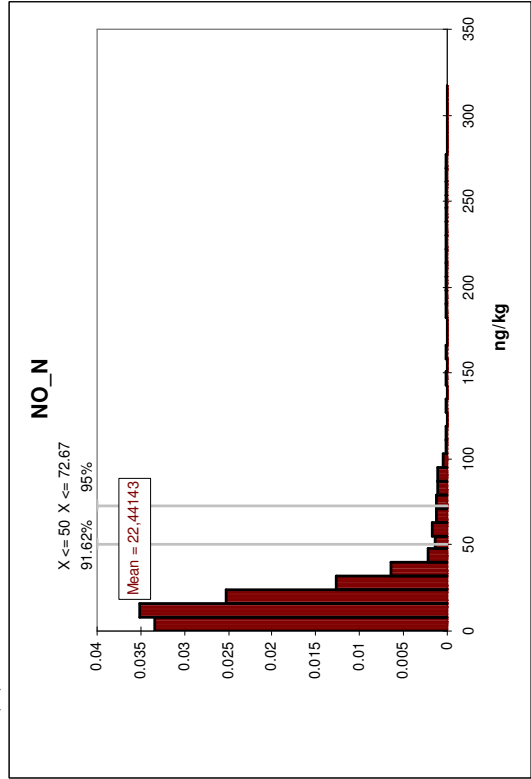


(g1) Latte pastorizzato normale centrale Novara



Periodo gennaio 2001 - agosto 2003

(h) Latte di massa normale centrale Novara



(h1) Latte pastorizzato normale centrale Novara

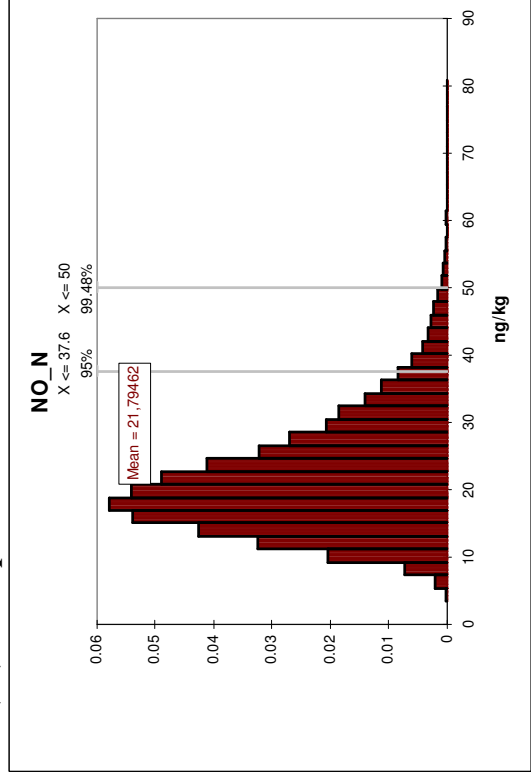


Figura 4 - Esposizione all'aflatossina M1 periodo settembre 2003 – dicembre 2004 - latte AQ prodotto nello stabilimento di Bologna

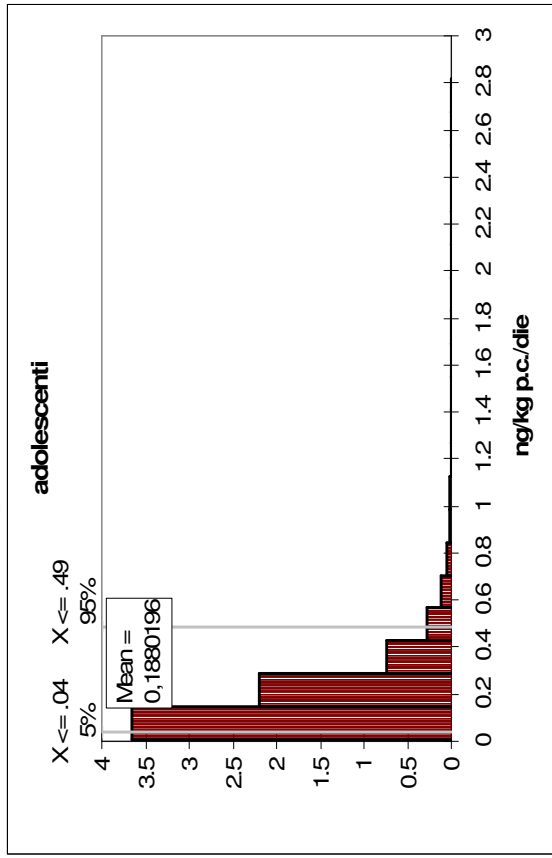
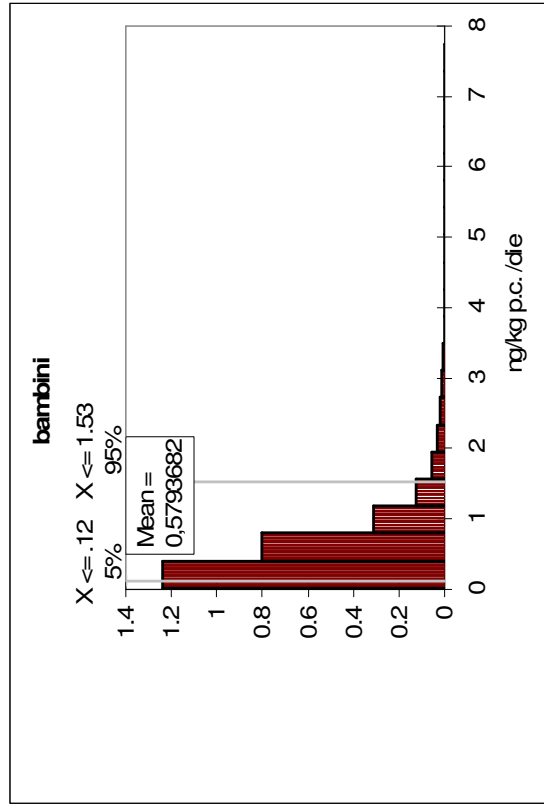


Figura 5 - Esposizione all'aflatossina M1 periodo gennaio 2001- agosto 2003 - latte AQ prodotto nello stabilimento di Bologna

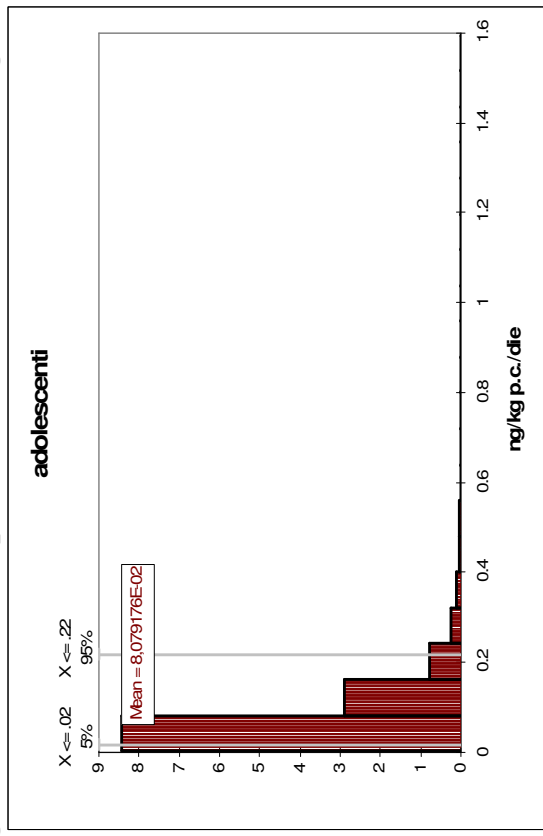
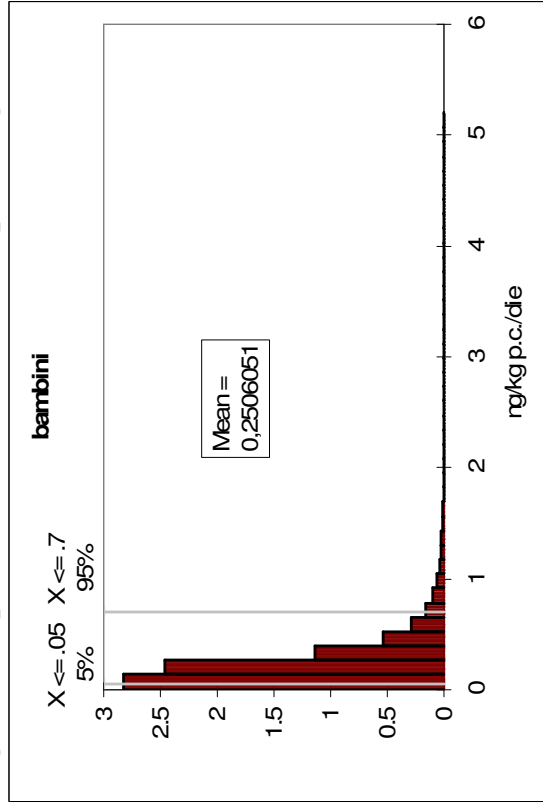
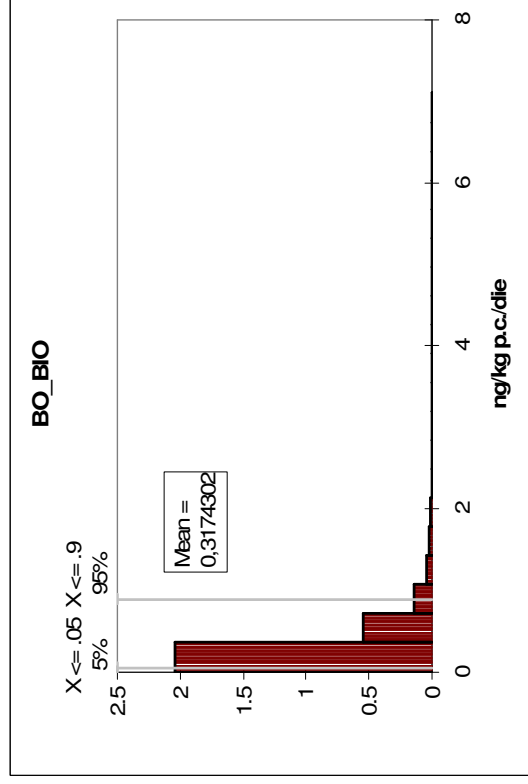
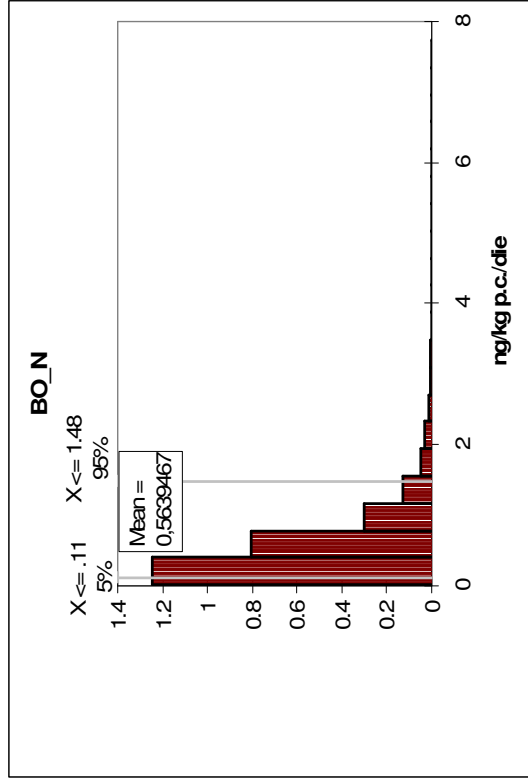


Figura 5a -Esposizione all'aflatossina M1 nei bambini - latte pastorizzato normale o biologico prodotto nello stabilimento di Bologna

Periodo settembre 2003-dicembre 2004



periodo gennaio 2001- agosto 2003

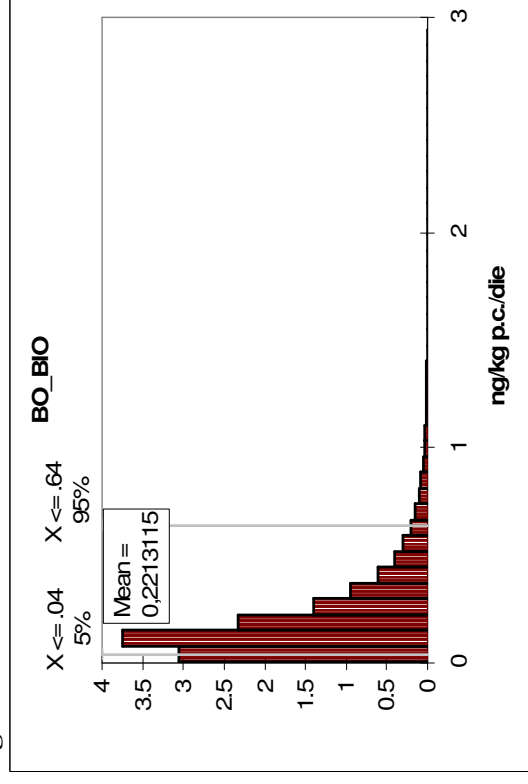
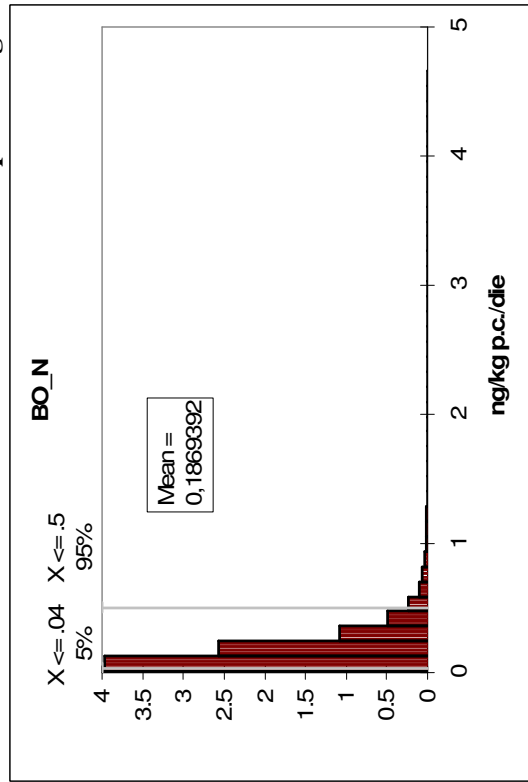


Figura 6 -Esposizione all'aflatossina M1 nei bambini - latte pastorizzato normale prodotto nello stabilimento di Anzio
Periodo settembre 2003 – dicembre 2004

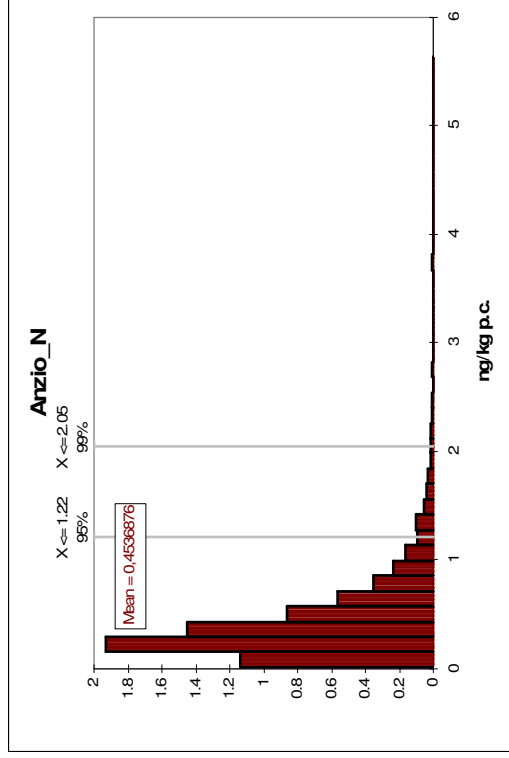


Figura 6 -Esposizione all'aflatossina M1 nei bambini - latte pastorizzato normale prodotto nello stabilimento di Anzio
Periodo gennaio 2001 – agosto 2003

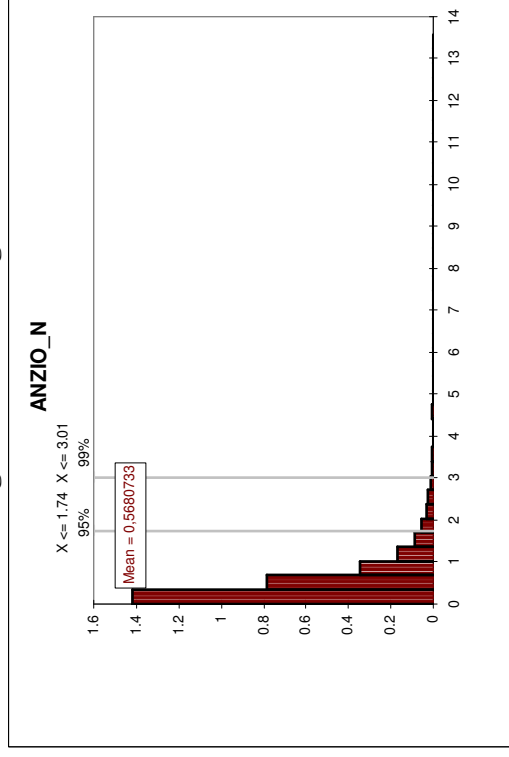


Figura 7 -Esposizione all'aflatossina M1 attraverso il latte pastorizzato normale prodotto nello stabilimento di Milano
Periodo settembre 2003 – dicembre 2004

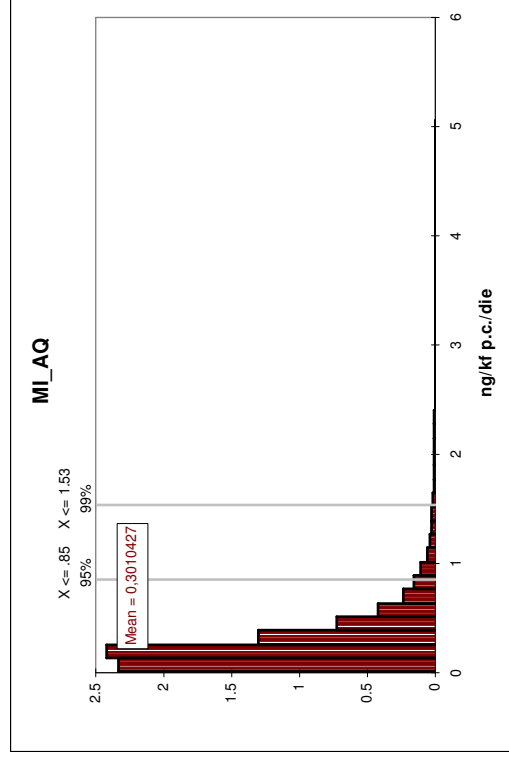


Figura 7 -Esposizione all'aflatossina M1 attraverso il latte pastorizzato normale prodotto nello stabilimento di Milano
Periodo settembre 2003 – dicembre 2004

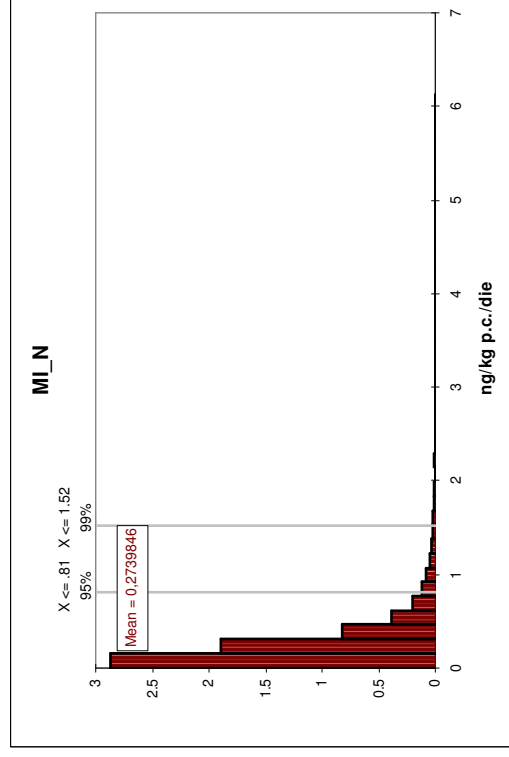


Figura 8 – Aumento incidenza casi di epatocarcinoma conseguente al consumo di latte – zona produzione Bologna

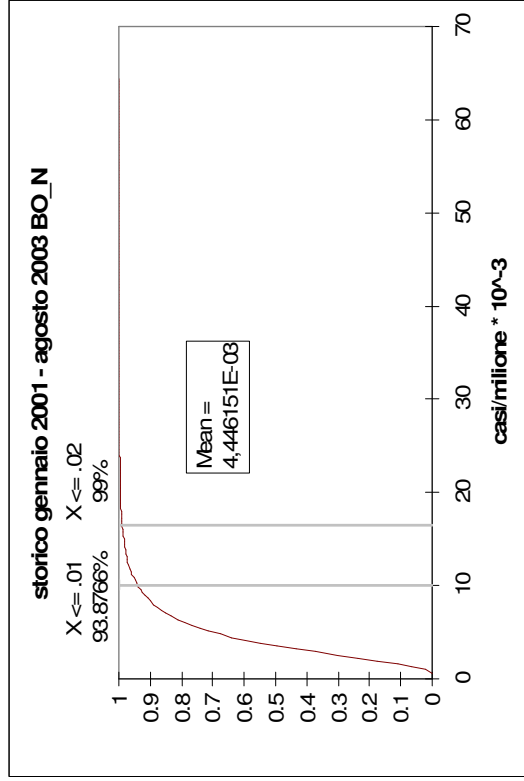
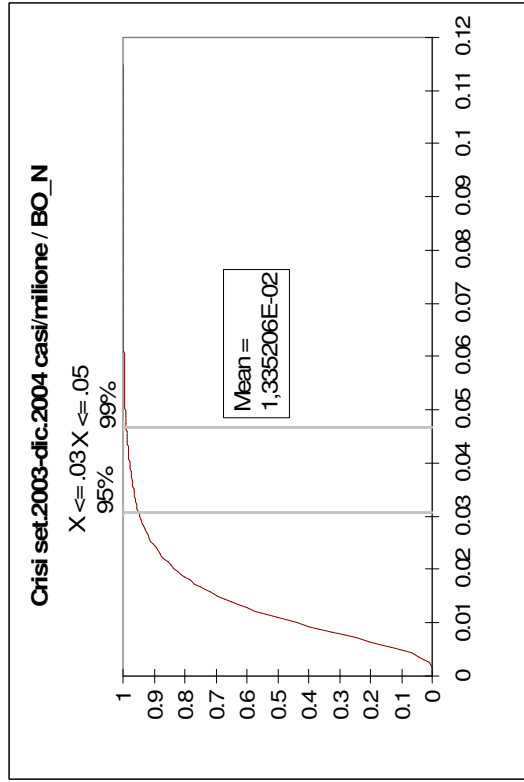
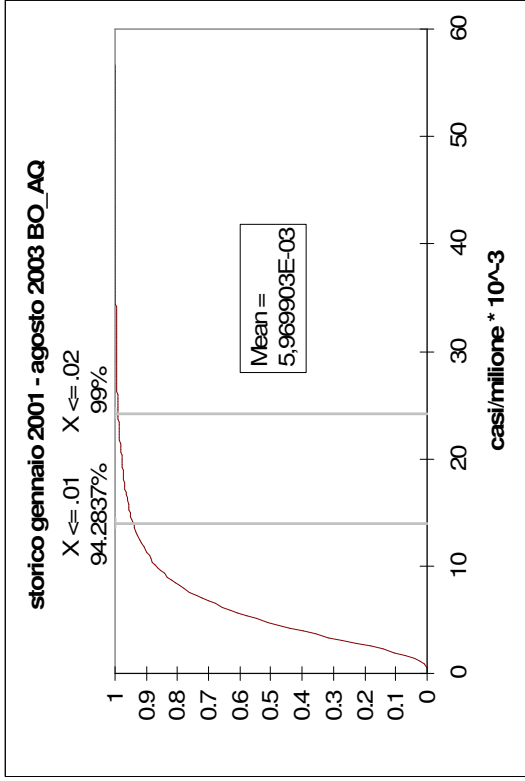
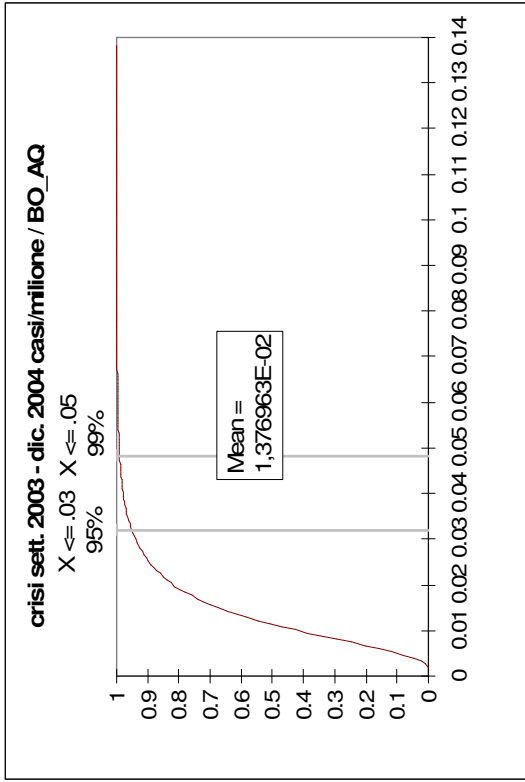


Figura 9 – Aumento incidenza casi di epatocarcinoma conseguente al consumo di latte – zone di produzione critiche

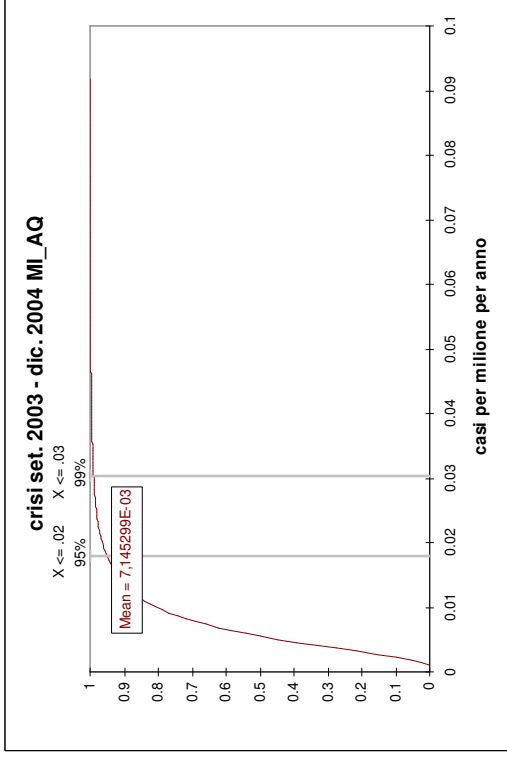
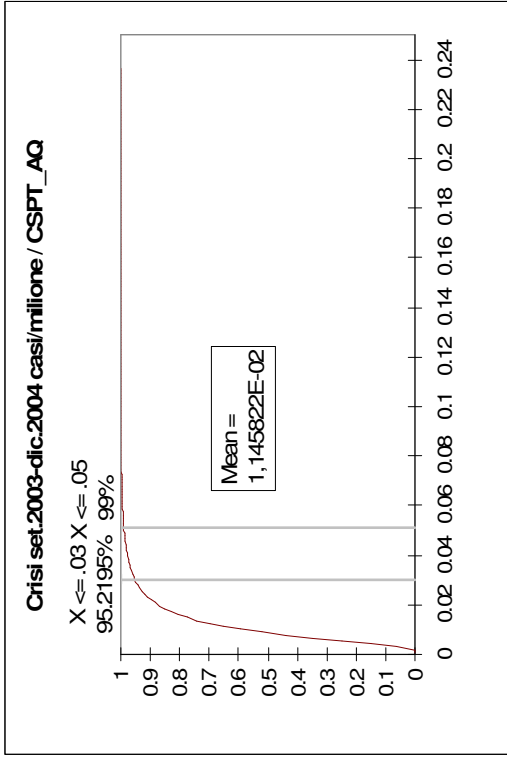


Tabella 1 – Regione di produzione Emilia Romagna
Periodo crisi settembre 2003 - dicembre 2004
latte di massa (ng/kg)

	CSPT_AQ	BO_AQ	BO_N	BO_BIO	RN_AQ	RN_N	Soliera_AQ	Soliera_N
min	0	0	0	0	0	0	0	0
max	332	344	336	314	319	336	333	339
media	40	54	45	28	34	27	43	29
95%	112	182	88	79	94	78	103	68
latte pastorizzato (ng/kg)								
	CSPT_AQ	BO_AQ	BO_N	BO_BIO	RN_AQ	RN_N	Soliera_AQ	Soliera_N
min	10.5	20.5	5.0	2.5	3.9	7.5	17.1	7.2
max	217	95	96	117	195	78	94	129
media	40	48	47	26	37	24	42	28
95%	84	65	63	50	69	40	61	60
esposizione giornaliera bambini (ng/kg peso corporeo)								
	CSPT_AQ	BO_AQ	BO_N	BO_BIO	RN_AQ	RN_N	Soliera_AQ	Soliera_N
min	0.002	0.016	0.008	0.009	0.008	0.017	0.008	0.011
max	15.241	7.726	7.100	9.119	6.859	7.175	10.152	5.070
media	0.382	0.564	0.317	0.447	0.289	0.509	0.346	0.348
95%	1.362	1.503	1.481	0.897	1.277	0.798	1.367	0.966
incremento casi epatocarcinoma per anno per milione di individui								
	CSPT_AQ	BO_AQ	BO_N	BO_BIO	RN_AQ	RN_N	Soliera_AQ	Soliera_N
min	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001	0.000	0.001	0.000
max	0.297	0.216	0.167	0.080	0.148	0.082	0.091	0.092
media	0.011	0.014	0.013	0.008	0.011	0.007	0.012	0.008
95%	0.029	0.032	0.031	0.019	0.027	0.017	0.029	0.020

Tabella 1a - Regione di produzione Emilia Romagna

Periodo gennaio 2001 - agosto 2003
latte di massa (ng/kg)

	CSPT_AQ	BO_AQ	BO_N	BO_BIO	RN_AQ	RN_N	Soliera_AQ	Soliera_N
min	0	0	0	0	0	0	0	0
max	308	344	345	339	361	336	337	345
media	29	29	25	28	39	25	43	32
95%	80	86	76	98	98	80	103	100

latte pastorizzato (ng/kg)

	CSPT_AQ	BO_AQ	BO_N	BO_BIO	RN_AQ	RN_N	Soliera_AQ	Soliera_N
min	2	3	6	2	2	1	2	2
max	49	69	45	70	67	54	87	63
media	29	21	15	18	39	26	38	32
95%	36	35	23	34	48	34	52	43

esposizione giornaliera bambini (ng/kg peso corporeo)

	CSPT_AQ	BO_AQ	BO_N	BO_BIO	RN_AQ	RN_N	SOLIE_AQ	SOLIE_N
min	0.016	0.005	0.009	0.005	0.024	0.016	0.017	0.014
max	5.126	5.194	4.656	2.946	7.461	3.629	5.198	6.830
media	0.350	0.251	0.187	0.221	0.473	0.314	0.455	0.389
95%	0.902	0.697	0.499	0.638	1.223	0.844	1.204	1.029

incremento casi epatocarcinoma per anno per milione di individui

	CSPT_AQ	BO_AQ	BO_N	BO_BIO	RN_AQ	RN_N	SOLIE_AQ	SOLIE_N
min	0.0007	0.0005	0.0004	0.0004	0.0009	0.0006	0.0009	0.0008
max	0.075	0.051	0.039	0.044	0.101	0.066	0.095	0.082
media	0.008	0.006	0.004	0.005	0.011	0.007	0.010	0.009
95%	0.019	0.015	0.011	0.014	0.026	0.017	0.025	0.021

Tabella 2 – Regione di produzione Centro – Sud (Lazio e Puglia)

latte di massa (ng/kg)

	Periodo crisi settembre 2003 - dicembre 2004				Periodo gennaio 2001 - agosto 2003			
	Anzio_AQ	Anzio_N	Bari_AQ	Bari_N	Anzio_AQ	Anzio_N	Bari_AQ	Bari_N
min	0	0	0	0	0	0	0	0
max	331	330	314	299	358	348	340	302
media	40	36	27	25	29	31	27	19
95%	91	71	55	50	71	165	63	49

latte pastorizzato (ng/kg)

	Periodo crisi settembre 2003 - dicembre 2004				Periodo gennaio 2001 - agosto 2003			
	Anzio_AQ	Anzio_N	Bari_AQ	Bari_N	Anzio_AQ	Anzio_N	Bari_AQ	Bari_N
min	10	11	15	14	10	8	6	7
max	125	71	58	81	153	199	204	99
media	41	37	33	26	32	47	34	21
95%	69	50	41	35	55	96	83	42

esposizione giornaliera bambini (ng/kg peso corporeo)

	Periodo crisi settembre 2003 - dicembre 2004				Periodo gennaio 2001 - agosto 2003			
	Anzio_AQ	Anzio_N	Bari_AQ	Bari_N	Anzio_AQ	Anzio_N	Bari_AQ	Bari_N
min	0.014	0.014	0.015	0.012	0.009	0.012	0.011	0.008
max	7.245	5.638	4.784	5.305	6.364	13.564	13.484	4.515
media	0.500	0.454	0.394	0.320	0.385	0.568	0.409	0.259
95%	1.372	1.215	1.047	0.854	1.068	1.744	1.180	0.737

incremento casi epatocarcinoma per anno per milione di individui

	Periodo crisi settembre 2003 - dicembre 2004				Periodo gennaio 2001 - agosto 2003			
	Anzio_AQ	Anzio_N	Bari_AQ	Bari_N	Anzio_AQ	Anzio_N	Bari_AQ	Bari_N
min	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.001	0.000
max	0.019	0.015	0.012	0.015	0.111	0.253	0.259	0.083
media	0.001	0.001	0.001	0.001	0.009	0.014	0.010	0.006
95%	0.003	0.003	0.002	0.002	0.023	0.037	0.026	0.016

Tabella 3 – Regione di produzione Nord – Ovest (Piemonte e Lombardia)
latte massa (ng/kg)

	Periodo crisi settembre 2003 - dicembre 2004				Periodo gennaio 2001 - agosto 2003			
	Milano_AQ	Milano_N	Novara_AQ	Novara_N	MI_AQ	MI_N	NO_AQ	NO_N
min	0	0	0	0	0	0	0	0
max	314	313	322	325	309	334	294	317
media	33	34	33	33	22	21	25	22
95%	79	69	78	78	51	82	81	73

	latte pastorizzato (ng/kg)				Periodo gennaio 2001 - agosto 2003			
	Milano_AQ	Milano_N	Novara_AQ	Novara_N	MI_AQ	MI_N	NO_AQ	NO_N
min	7	7	9	8	7	6	6	3
max	80	152	75	129	126	109	90	81
media	31	33	33	35	25	22	25	22
95%	47	49	48	56	40	48	45	38

	esposizione giornaliera bambini (ng/kg peso corporeo)				Periodo gennaio 2001 - agosto 2003			
	Milano_AQ	Milano_N	Novara_AQ	Novara_N	MI_AQ	MI_N	NO_AQ	NO_N
min	0.014	0.008	0.017	0.020	0.008	0.006	0.009	0.006
max	6.107	4.830	4.265	8.577	5.047	6.111	4.808	4.115
media	0.371	0.400	0.401	0.422	0.301	0.274	0.309	0.267
95%	1.008	1.087	1.065	1.149	0.848	0.809	0.887	0.764

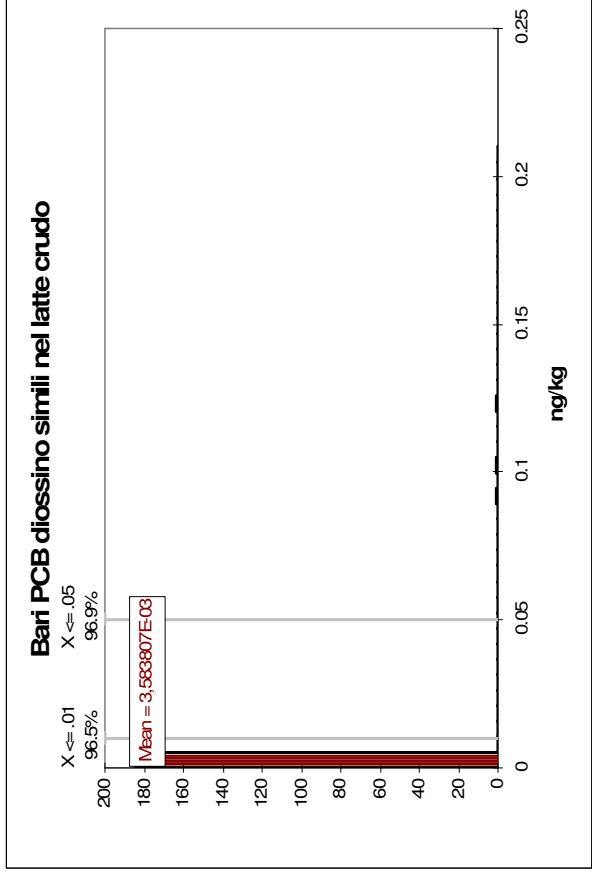
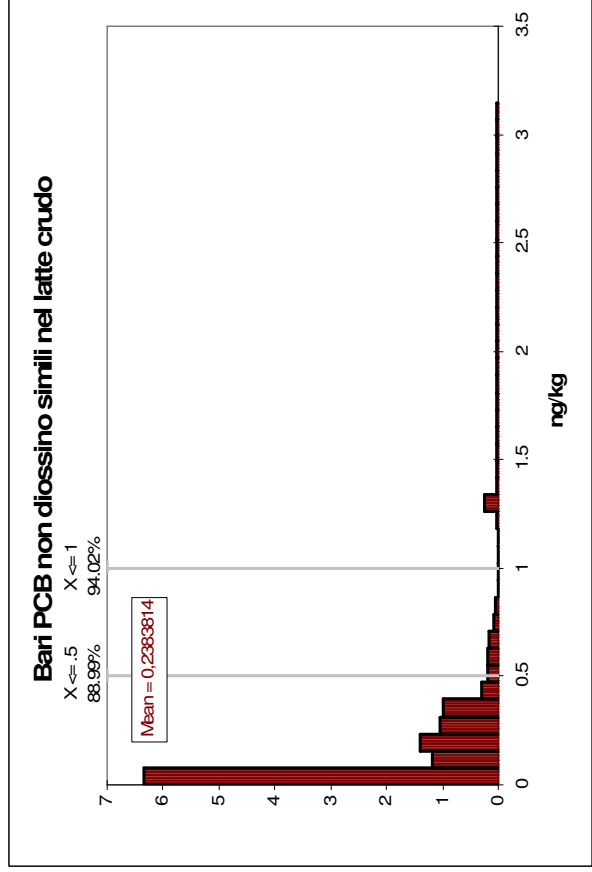
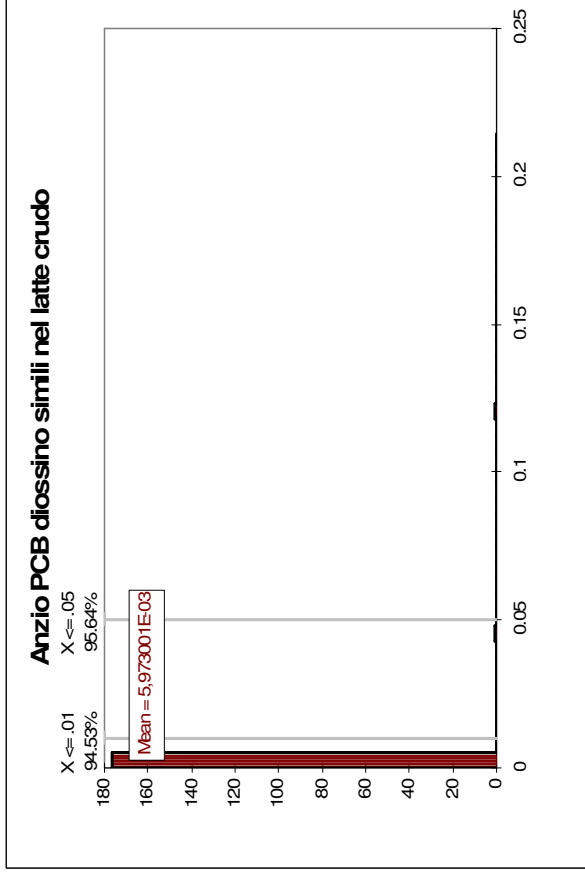
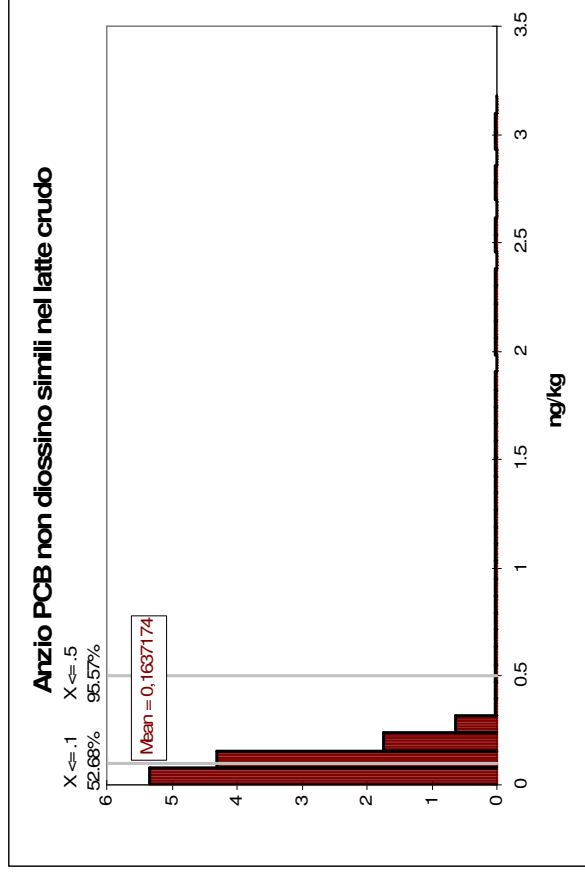
	incremento casi epatocarcinoma per anno per milione individui				Periodo gennaio 2001 - agosto 2003			
	Milano_AQ	Milano_N	Novara_AQ	Novara_N	MI_AQ	MI_N	NO_AQ	NO_N
min	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
max	0.111	0.091	0.074	0.120	0.092	0.135	0.087	0.084
media	0.009	0.010	0.010	0.010	0.007	0.006	0.007	0.006
95%	0.021	0.023	0.023	0.025	0.018	0.017	0.019	0.016

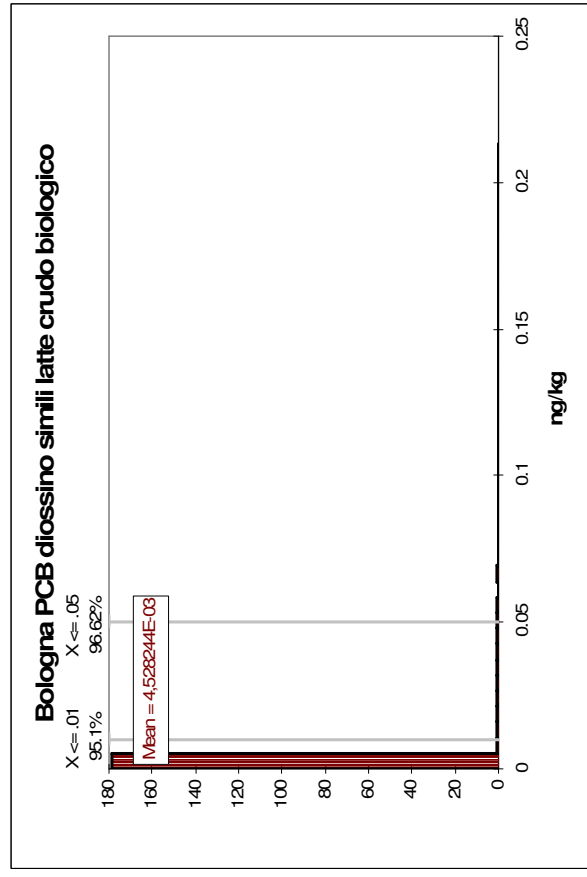
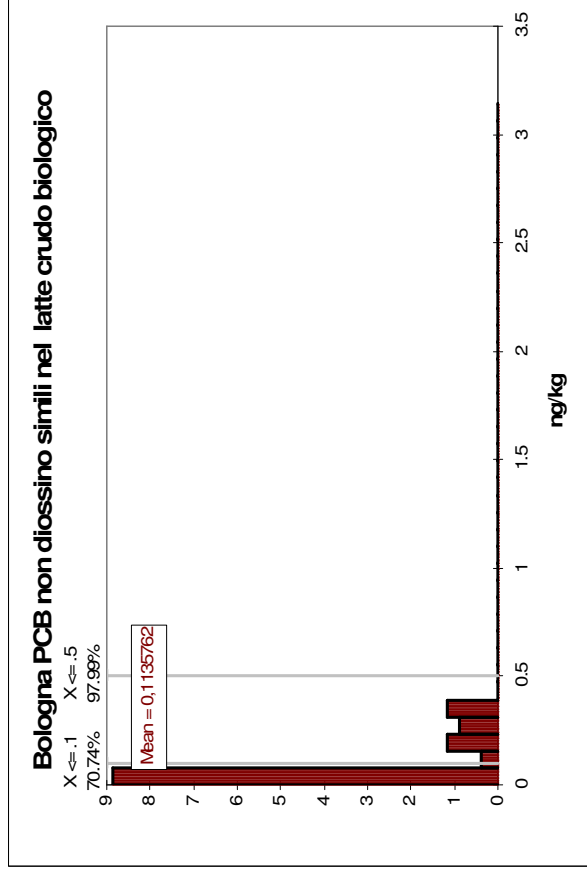
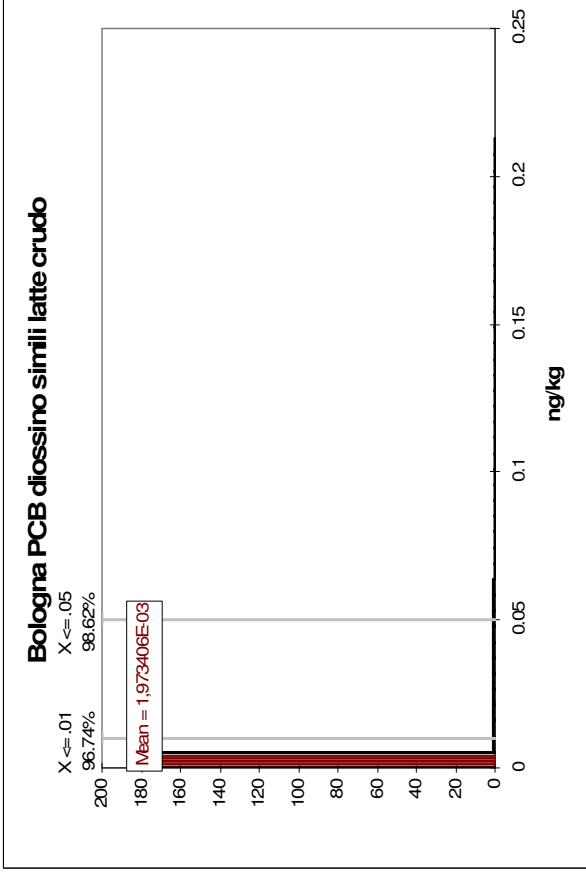
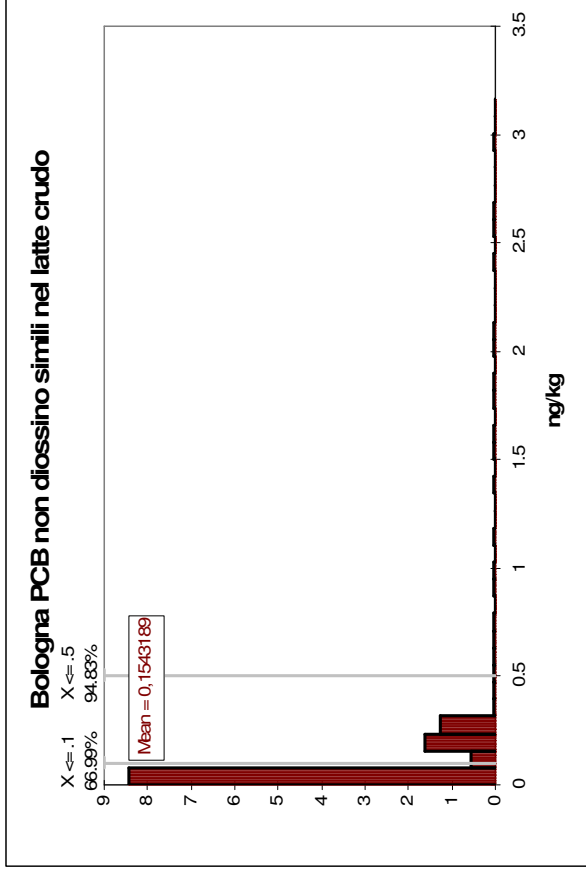
ALLEGATO II

Figure e Tabelle relative alla contaminazione del latte da PCB

- Figura 1 - Distribuzione della concentrazione di PCBs nel latte crudo di massa
- Figura 2 - Distribuzione della concentrazione di PCBs nel latte alimentare AQ (pastorizzato)
- Figura 3 - Valori di PCB espressi come TEQ diossina assunti giornalmente da bambini in conseguenza del consumo di latte
- Figura 4 - Valori di PCB non diossino simili assunti giornalmente da bambini (ng/kg peso corporeo) in conseguenza del consumo di latte
- Figura 5 - Rischio aggiuntivo di comparsa di cancro in conseguenza della contaminazione da PCB del latte
- Tabella 1 - Concentrazione di PCB non diossino simili nel latte di massa
- Tabella 2 - Concentrazione di PCB diossino simili nel latte di massa
- Tabella 3 - Esposizione giornaliera bambini a PCB diossino simili mediante il consumo di latte
- Tabella 4 - Esposizione giornaliera bambini a PCB non diossino simili mediante il consumo di latte
- Tabella 5 - Esposizione giornaliera bambini a PCB espresso in TEQ diossina mediante il consumo di latte
- Tabella 6 - Rischio di cancro in conseguenza dell'esposizione ai PCB totali mediante il consumo di latte (incremento casi per anno)
- Tabella 7 - Descrittori statistici della presenza di PCB nel latte di tipo AQ
- Tabella 8 - Descrittori statistici della presenza di PCB nel latte di tipo biologico

Figura 1 - Distribuzione della concentrazione (ng/kg) di PCBs nel latte crudo di massa





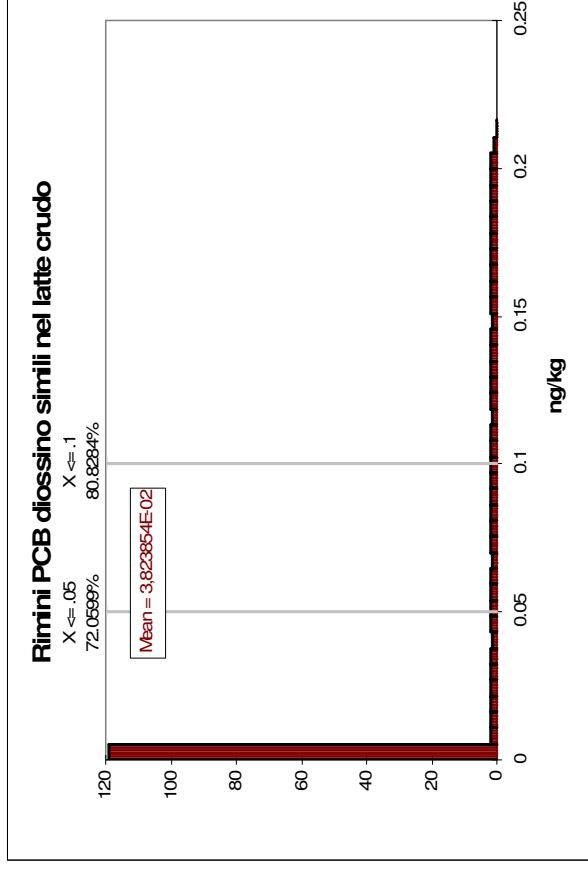
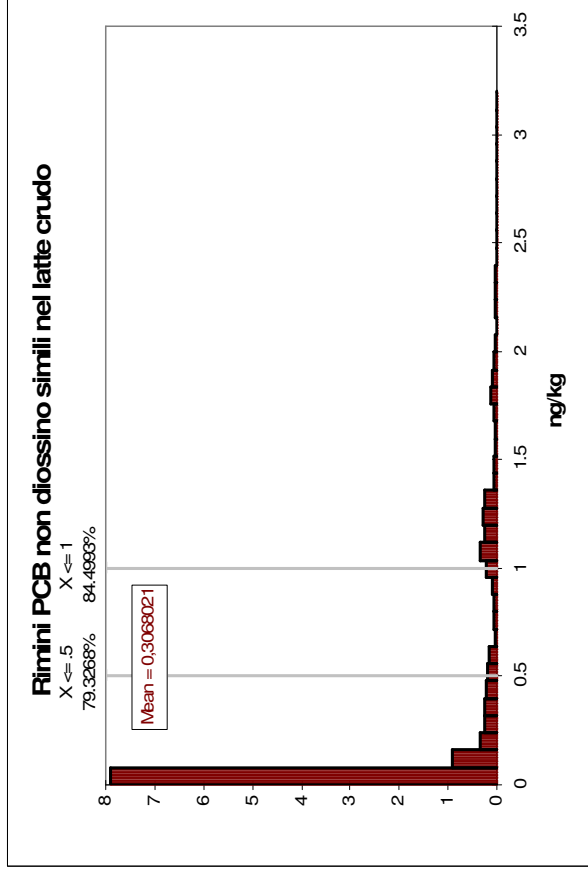
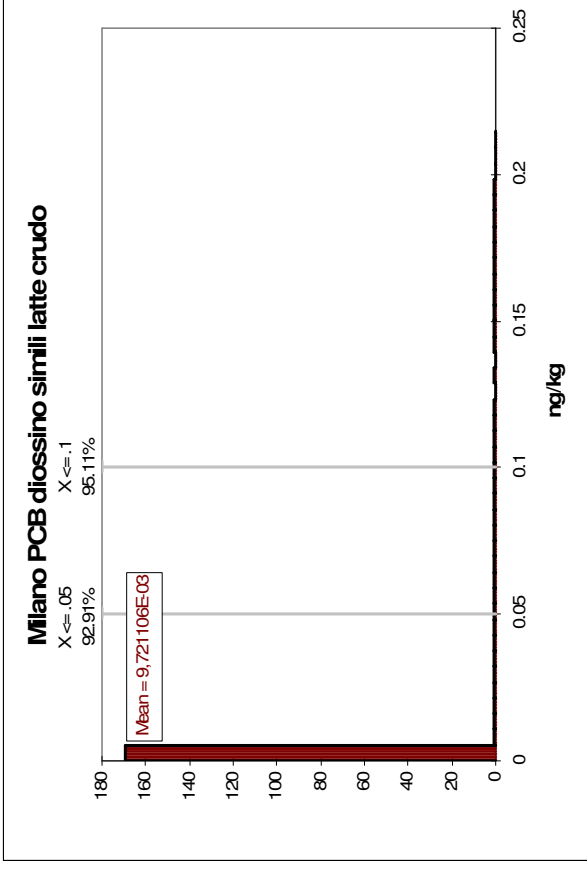
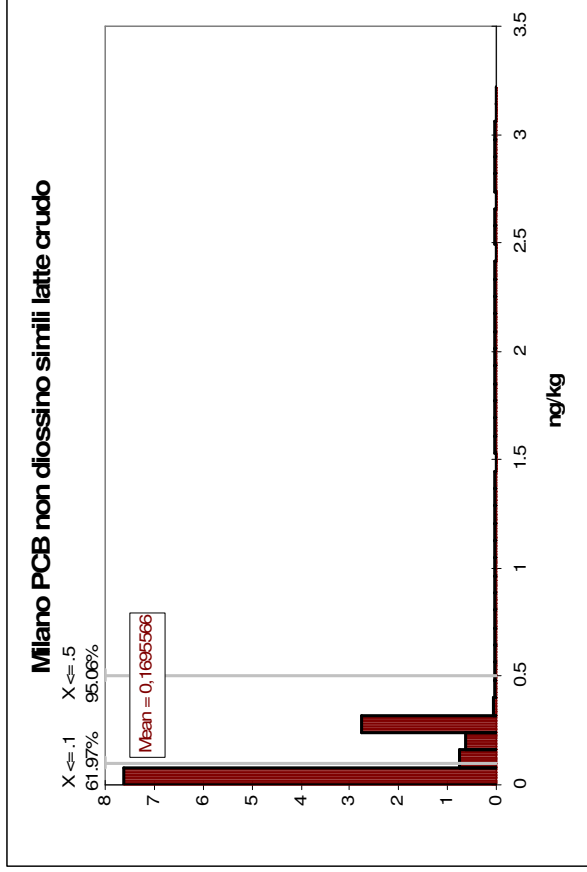
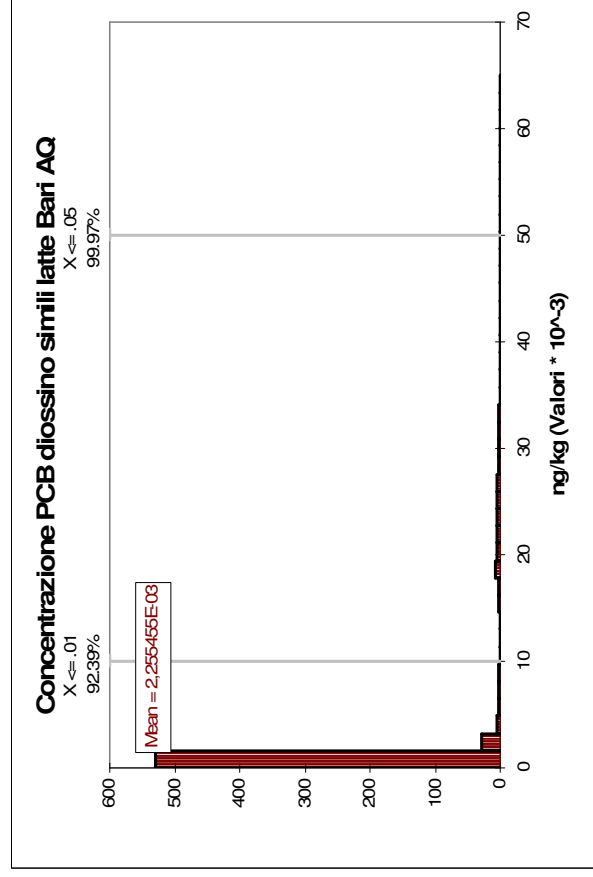
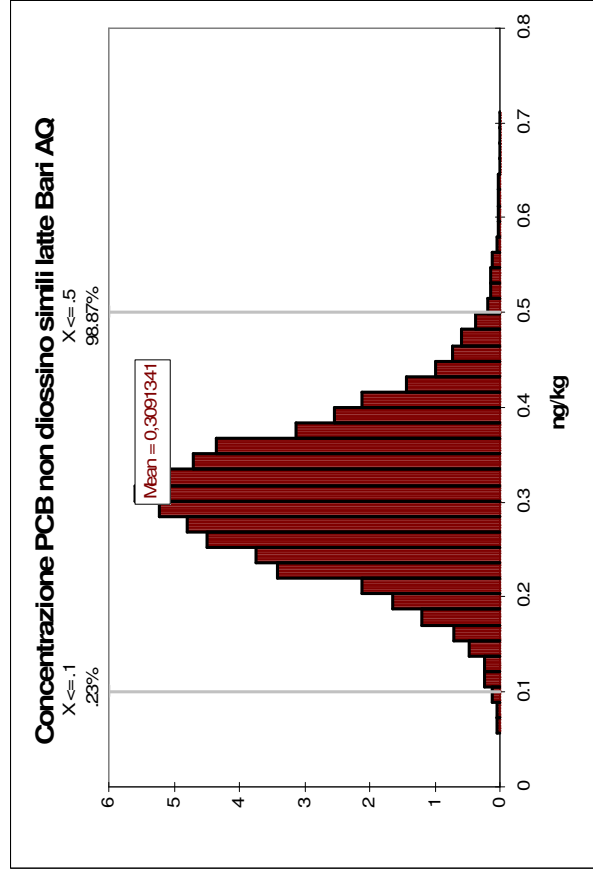
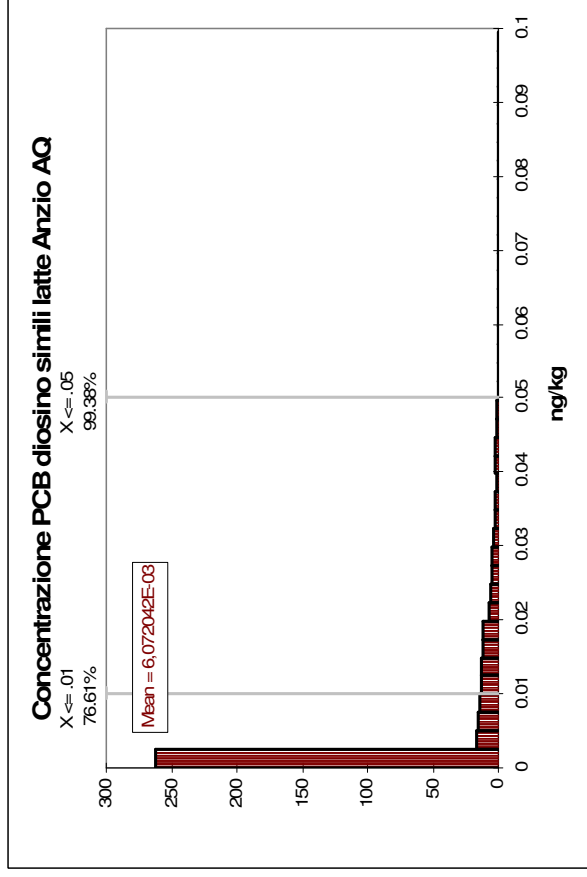
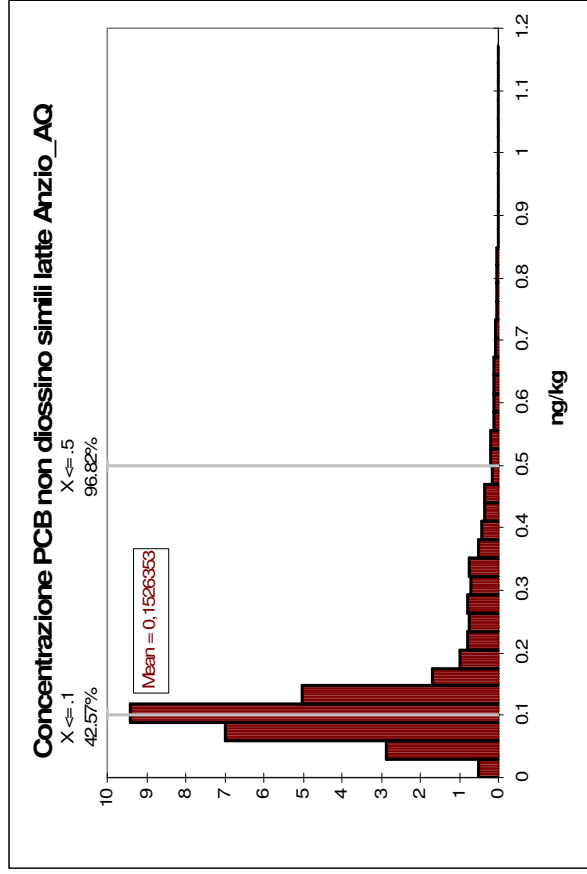
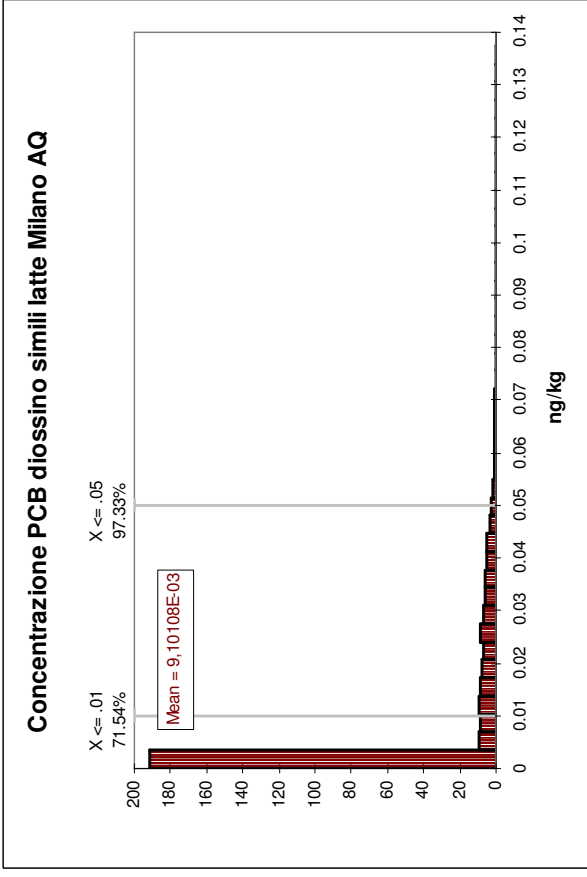
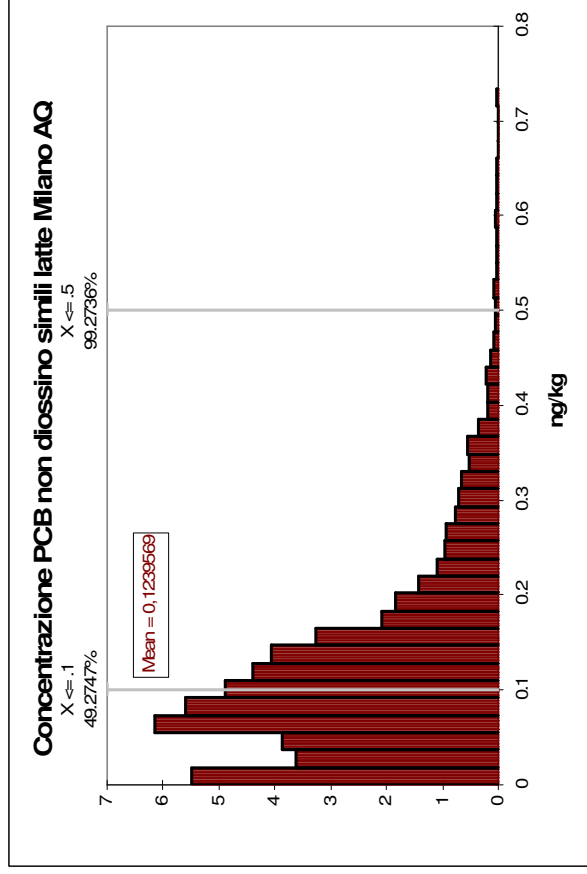
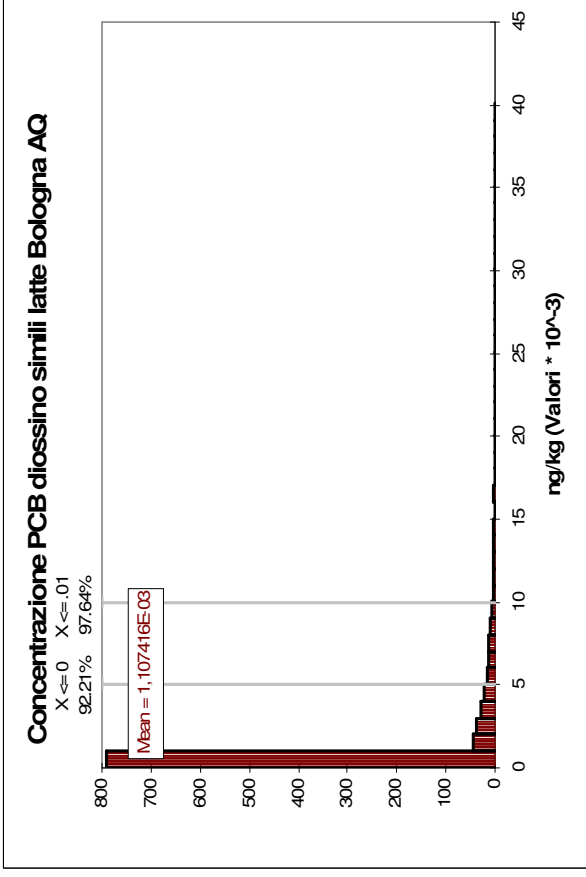
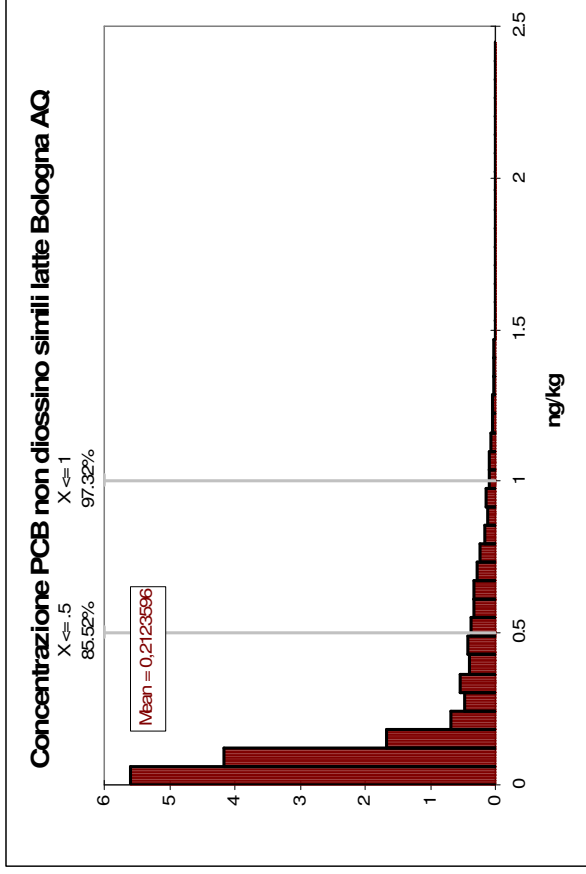


Figura 2 - Distribuzione della concentrazione (ng/kg) di PCBs nel latte alimentare AQ (pastorizzato)





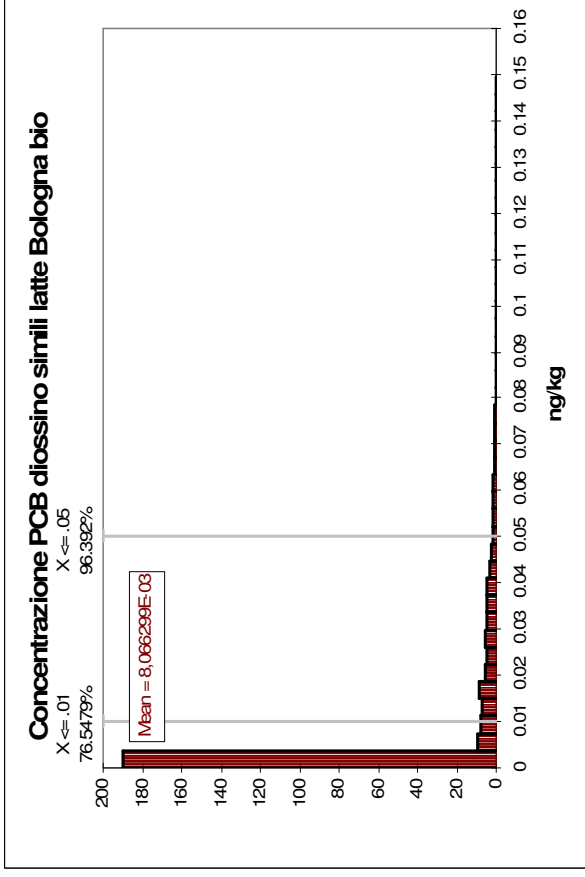
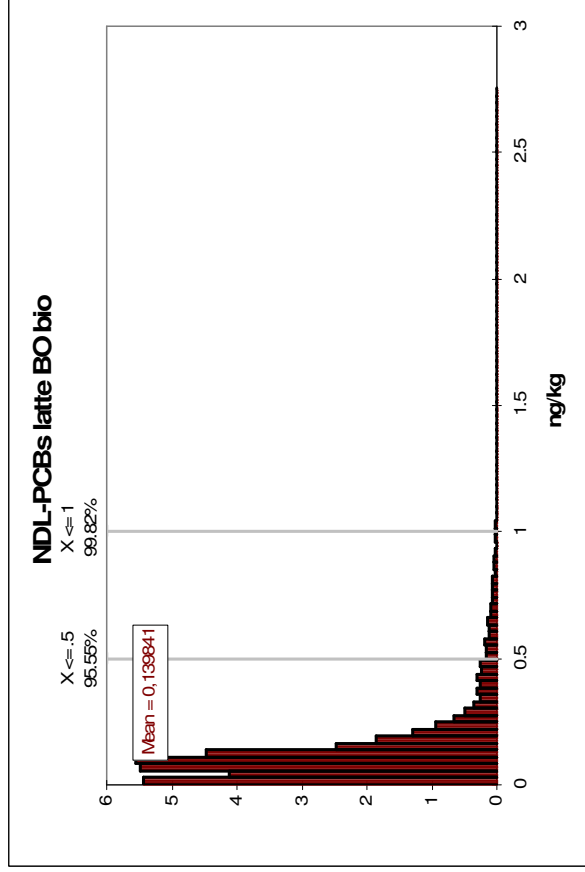
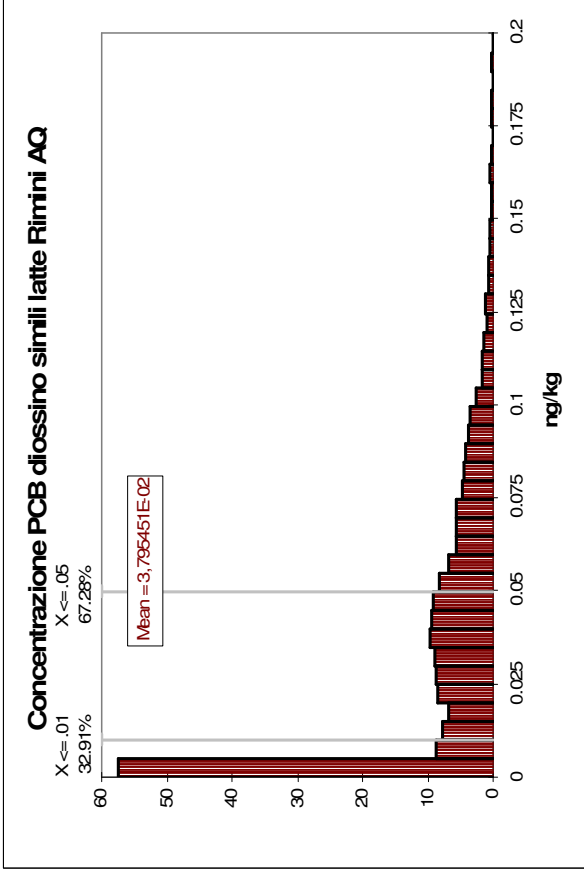
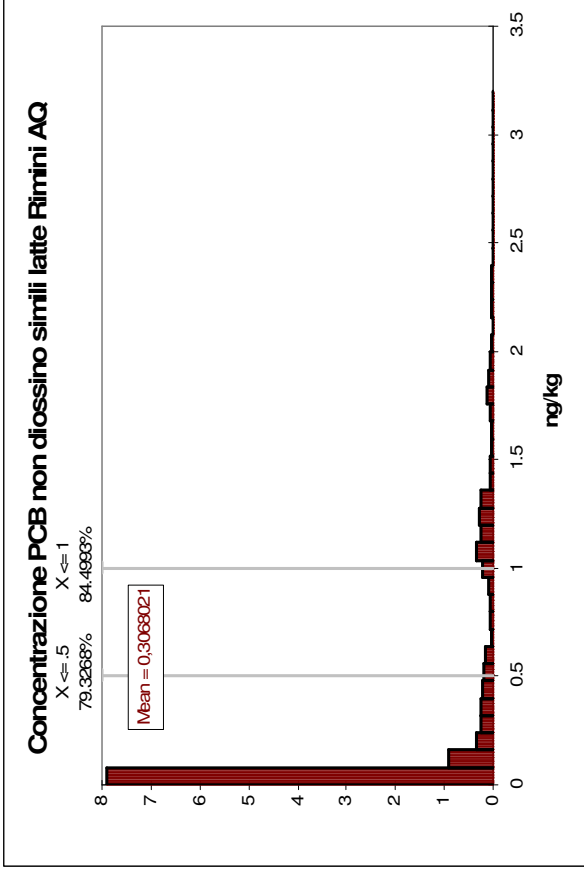
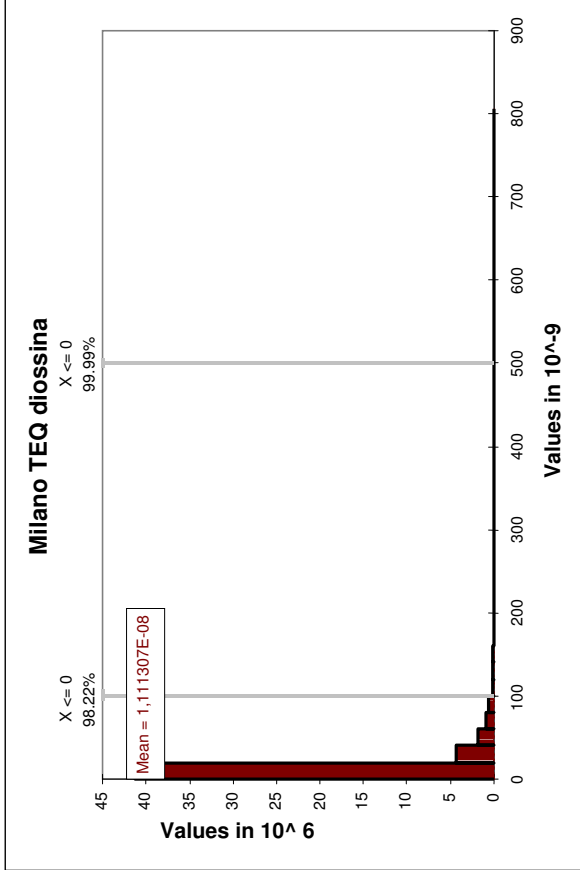
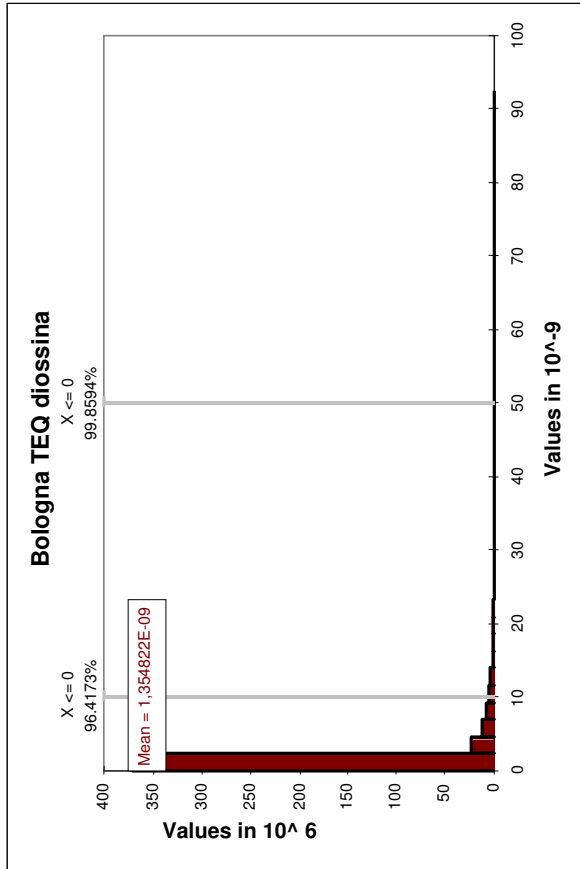
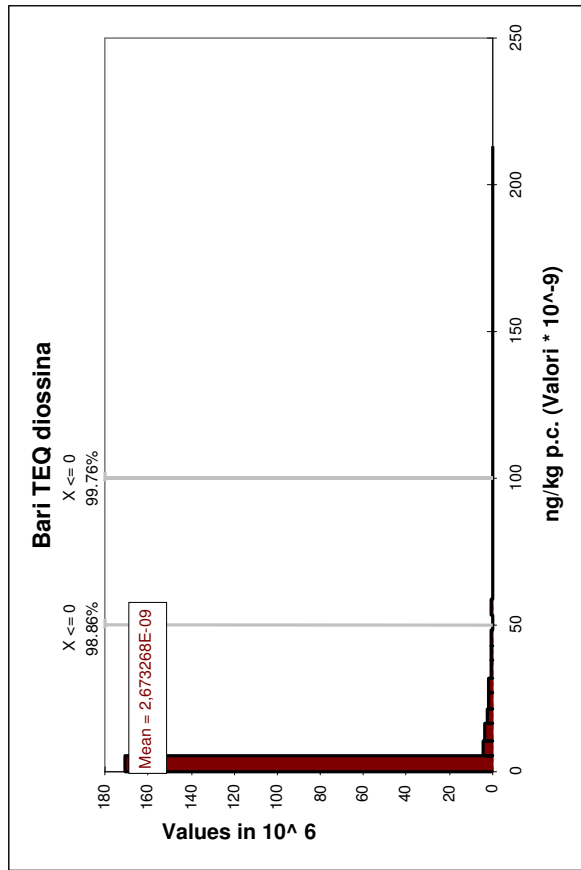
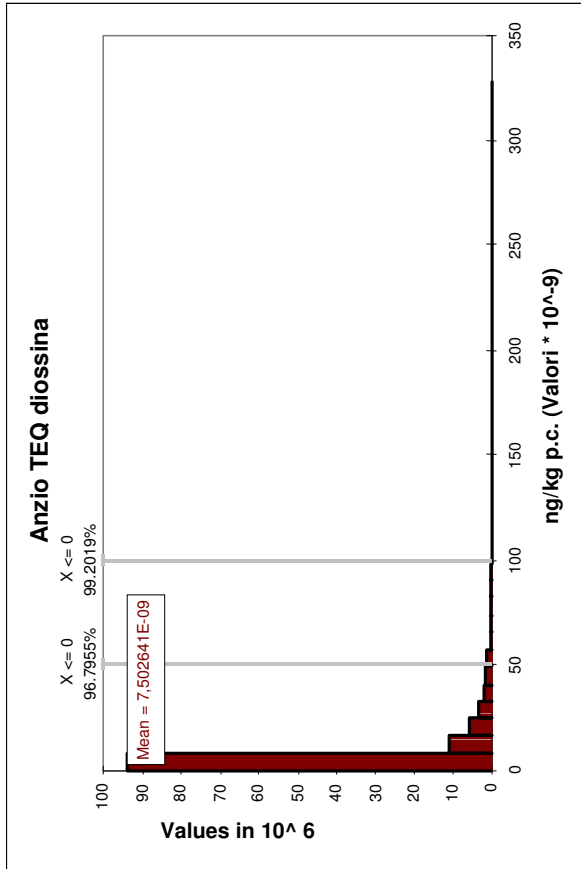


Figura 3 - Valori di TEQ diossina assunti giornalmente da bambini (ng/kg peso corporeo) in conseguenza del consumo di latte



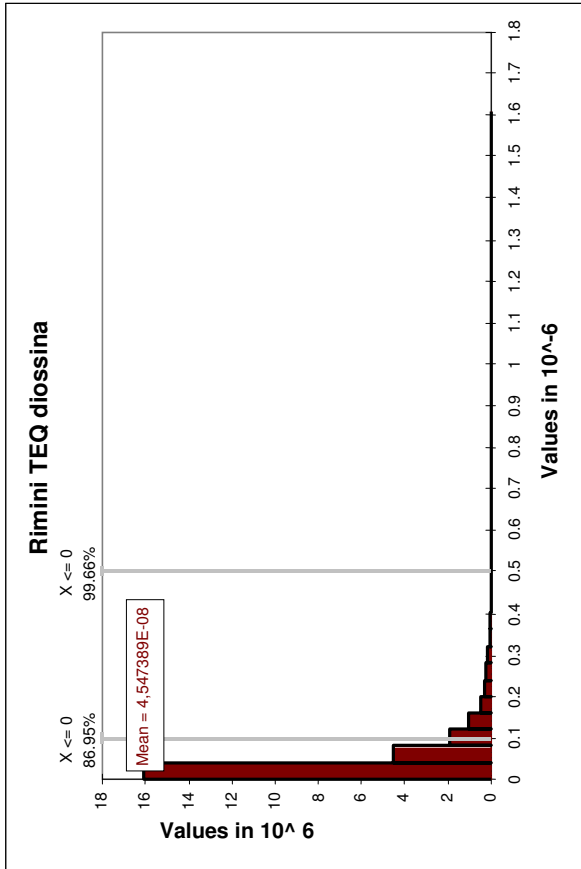
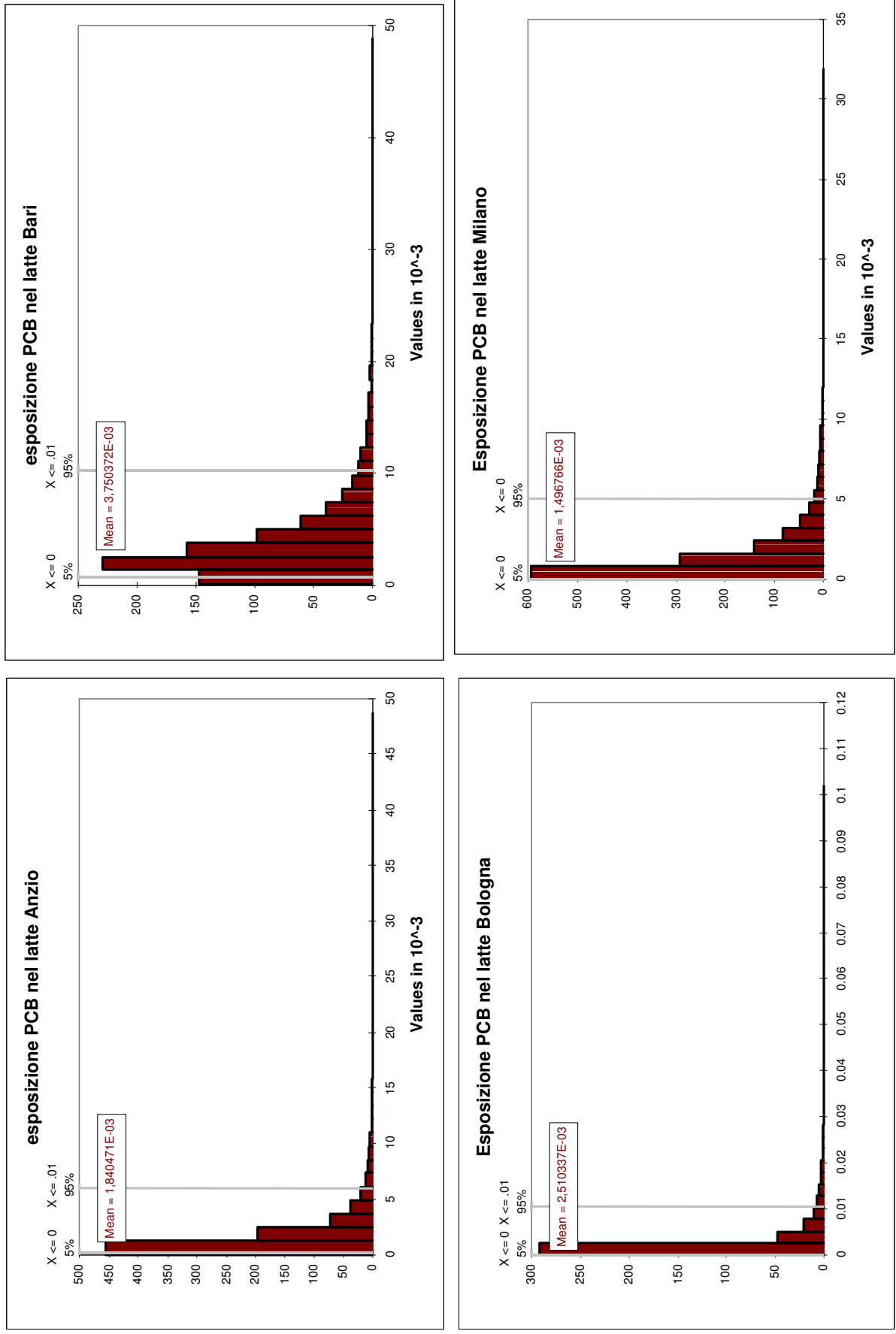


Figura 4 Valori di PCB non diossino simili assunti giornalmente da bambini (ng/kg peso corporeo) in conseguenza del consumo di latte



Esposizione PCB nel latte Rimini

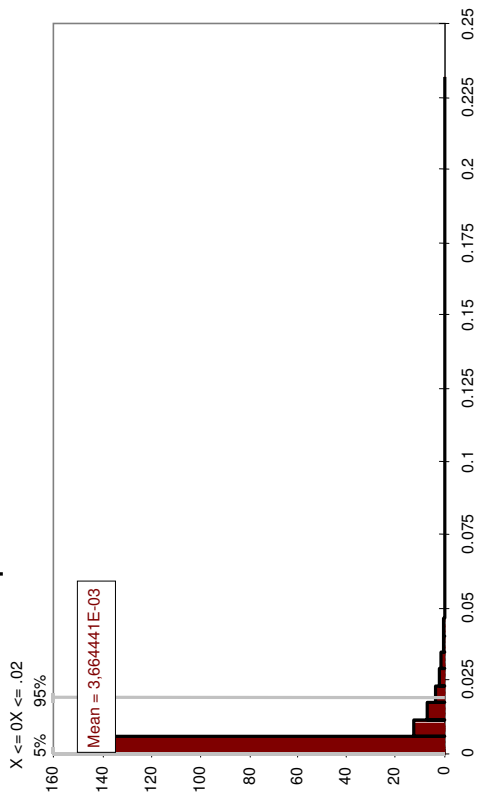
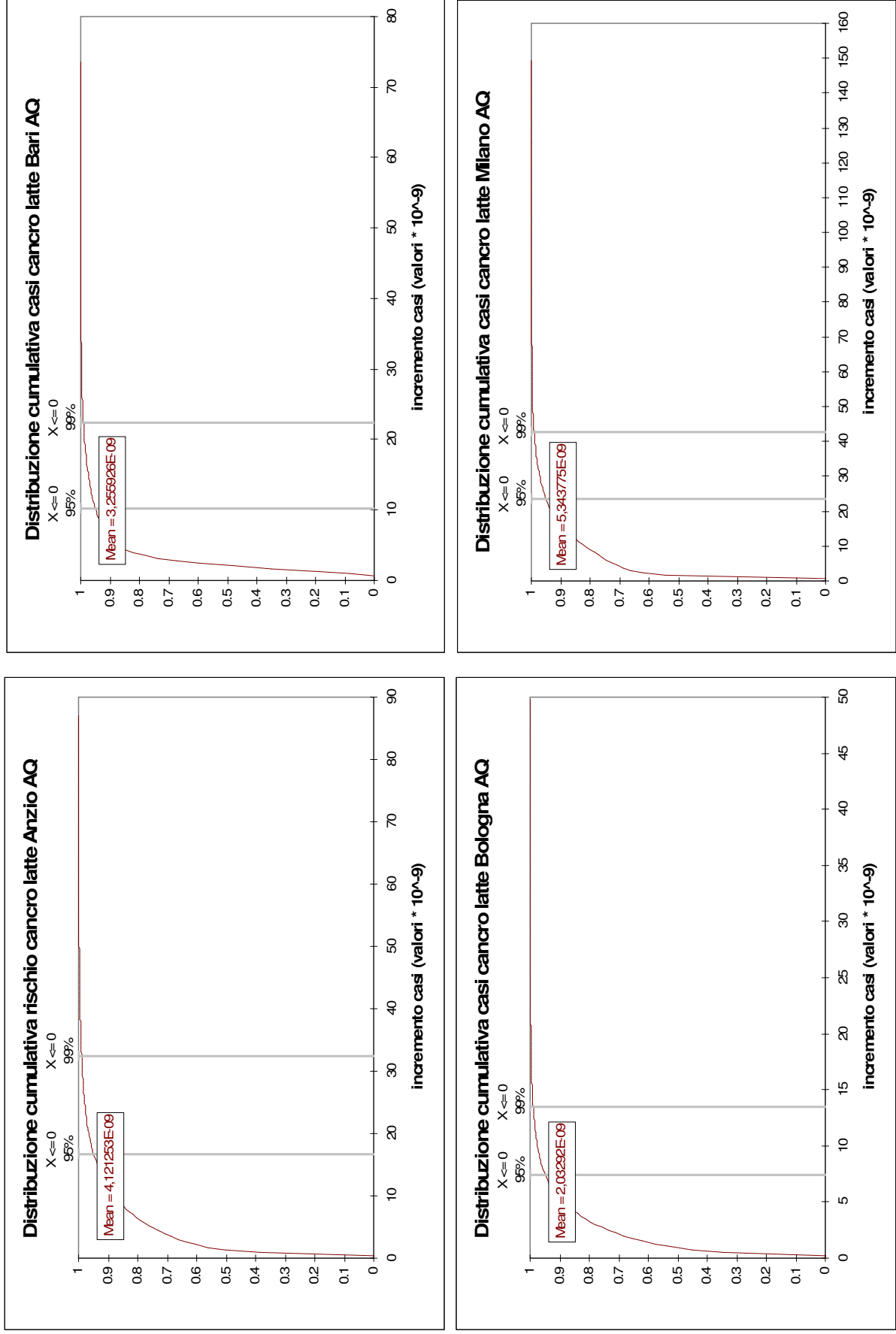


Figura 5 - Rischio aggiuntivo di comparsa di cancro in conseguenza della contaminazione da PCB del latte



Distribuzione cumulativa casi cancro latte Rimini AQ

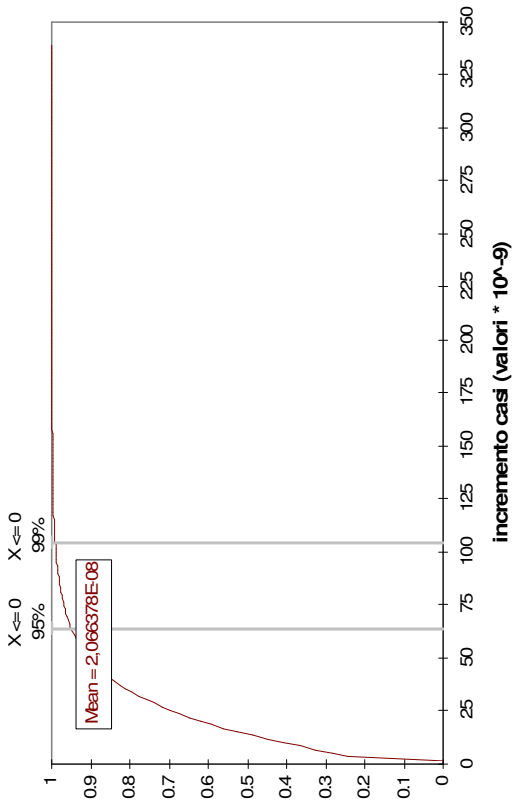


Tabella 1

Concentrazione di PCB non diossino simili nel latte di massa (ng/kg)

	Anzio AQ	BA AQ	BO AQ	BO bio	MI AQ	RN AQ
min	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
max	3.1722	3.1476	3.1611	3.1414	3.2197	3.2675
media	0.1637	0.2384	0.1543	0.1136	0.1696	0.3068
95%	0.3012	1.2829	0.5645	0.3683	0.4729	2.5509

Tabella 3

Esposizione giornaliera bambini a PCB diossino simili mediante il consumo di latte (ng/kg p.c. valori * 10⁻³)

	Anzio	Bari	Bologna	Milano	Rimini
min	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
max	3.282377	2.130591	0.924734	8.062633	16.068220
media	0.075026	0.026733	0.013548	0.111131	0.454739
95%	0.381507	0.160063	0.077031	0.577556	1.657999

Tabella 5

Esposizione giornaliera bambini a PCB espresso in TEQ diossina mediante il consumo di latte (ng/kg p.c. valori * 10⁻³)

	Anzio	Bari	Bologna	Milano	Rimini
min	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
max	0.000328	0.000213	0.000092	0.000806	0.001607
media	0.000008	0.000003	0.000001	0.000011	0.000045
95%	0.000038	0.000016	0.000008	0.000058	0.000166

Tabella 2

Concentrazione di PCB diossino simili nel latte di massa (ng/kg)

	Anzio AQ	BA AQ	BO AQ	BO bio	MI AQ	RN AQ
min	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
max	0.2140	0.2096	0.2123	0.2128	0.2145	0.2158
media	0.0060	0.0036	0.0020	0.0045	0.0097	0.0382
95%	0.0271	0.0962	0.0110	0.0076	0.0969	0.1792

Tabella 4

Esposizione giornaliera bambini a PCB non diossino simili mediante il consumo di latte (ng/kg p.c. valori * 10⁻³)

	Anzio	Bari	Bologna	Milano	Rimini
min	0.000000	0.081983	0.000000	0.000000	0.000000
max	48.713770	48.859040	102.210800	31.919010	231.786700
media	1.840471	3.750372	2.510337	1.496766	3.664441
95%	6.052976	10.273000	10.586580	4.983061	19.028250

Tabella 6

Rischio di cancro in conseguenza dell'esposizione ai PCB totali mediante il consumo di latte (incremento casi per anno)

	Anzio	Bari	Bologna	Milano	Rimini
min	1.44E-22	2.41E-10	2.95E-23	5.66E-23	1.38E-24
max	8.71E-08	7.36E-08	4.98E-08	1.49E-07	3.39E-07
media	4.12E-09	3.26E-09	2.03E-09	5.34E-09	2.07E-08
95%	1.67E-08	1.02E-08	7.44E-09	2.36E-08	6.36E-08

Tabella 7 - Descrittori statistici della presenza di PCB nel latte di tipo AQ (ng/kg)

n.	Somma		(105)		(118)		(28) 2,4,4'-		(52) 2,2',5,5'-		(99)		(101)		(110)		(138)		(146)		(149)		(151)		(158)		(170)			
	dioxin-like PCBs	non dioxin-like PCBs	PentaCB (dioxin-like)	PentaCB (dioxin-like)	PentaCB	TriCB	TriCB	TetraCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB
80	0.000	0.000	0.000	0.060	0.020	0.030	0.020	0.030	0.020	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.090	0.090	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.010	0.000	0.000	0.000
Xmin*	0.060	0.920	0.000	0.060	0.020	0.920	0.020	0.920	0.770	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.090	0.090	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.060	0.060	0.000	0.000	0.000	
Xmax	0.001	0.106	-	0.060	0.020	0.229	0.020	0.229	0.208	-	-	-	-	-	0.090	0.090	-	-	-	-	-	-	-	-	0.027	-	-	-	-	-
media	0.000	0.000	-	0.060	0.020	0.120	0.020	0.120	0.195	-	-	-	-	-	0.090	0.090	-	-	-	-	-	-	-	-	0.010	-	-	-	-	-
mediana	0.000	0.000	-	0.060	0.020	0.032	0.020	0.032	0.020	-	-	-	-	-	0.090	0.090	-	-	-	-	-	-	-	-	0.010	-	-	-	-	-
Q ₁₀	0.000	0.262	-	0.060	0.020	0.470	0.020	0.470	0.370	-	-	-	-	-	0.090	0.090	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	-
Q ₉₀	0.000	0.004	-	0.060	0.020	0.035	0.020	0.035	0.035	-	-	-	-	-	0.090	0.090	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	-

*min analitico =0.01*0.035 su 1 g di grasso e 0.035 è una percentuale media di grasso nel latte

Tabella 8 - Descrittori statistici della presenza di PCB nel latte di tipo biologico (ng/kg)

n.	Somma		(105)		(118)		(28) 2,4,4'-		(52)		(99)		(101)		(110)		(138)		(146)		(149)		(151)		(158)		(170)			
	dioxin-like PCBs	non dioxin-like PCBs	PentaCB (dioxin-like)	PentaCB (dioxin-like)	PentaCB	TriCB	TriCB	TetraCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	PentaCB	
49	0.000	0.000	0.000	0.070	0.170	0.070	0.170	0.070	0.070	0.070	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050	0.050	0.000	0.000	0.000	
Xmin*	0.070	0.360	0.000	0.070	0.170	0.360	0.170	0.360	0.330	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000
Xmax	0.001	0.081	-	0.070	0.170	0.246	0.170	0.246	0.169	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	-
media	0.000	0.000	-	0.070	0.170	0.230	0.170	0.230	0.150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	-
mediana	0.000	0.000	-	0.070	0.170	0.079	0.170	0.079	0.028	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	-
Q ₁₀	0.000	0.262	-	0.070	0.170	0.354	0.170	0.354	0.294	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	-
Q ₉₀	0.000	0.004	-	0.070	0.170	0.035	0.170	0.035	0.035	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	-

*min analitico =0.01*0.035 su 1 g di grasso e 0.035 è una percentuale media di grasso nel latte