

## Definizione di limiti massimi di residui negli alimenti: criteri per assicurare una adeguata protezione nei confronti dell'infanzia

Alberto Mantovani

L'utilizzo di prodotti fitosanitari in agricoltura deve sottostare a parametri e limitazioni d'uso che escludano, nei limiti delle conoscenze disponibili, la presenza di rischi per la salute dei consumatori. In particolare le regolamentazioni europee (EEC Reg. 2377/90 per i farmaci zootecnici e Dir. 414/91/EEC per i prodotti fitosanitari) stabiliscono che possono essere utilizzate solo sostanze di cui sono stati valutati i possibili rischi per i consumatori attraverso un insieme di studi tossicologici a breve e lungo termine.

La valutazione del complesso degli studi tossicologici devono portare alla definizione di un *Admissible Daily Intake* (ADI, espresso in mg o  $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c.) cioè di un livello di assunzione prolungata, in teoria per tutta la vita, che non comporti un rischio per la salute. Secondo l'approccio convenzionale l'ADI viene ricavato dal più basso livello di dose senza effetto osservabile *No Observed Effect Level* (NOEL) derivato dall'insieme dei test di tossicologia; il NOEL identificato per la derivazione dell'ADI viene diviso per un fattore di sicurezza (generalmente uguale o superiore a 100, sulla base della qualità dei dati e della gravità degli effetti indotti dalla molecola) per tenere conto della difficoltà di estrapolare, alla ampia ed eterogenea popolazione umana, dei risultati ottenuti su limitati ed omogenei gruppi di animali da laboratorio.

La valutazione dell'ADI e di altri studi e dati sulla trasformazione e persistenza della molecola negli organismi bersaglio e nell'ambiente devono portare alla definizione di Limiti Massimi di Residui (LMR, espressi come mg o  $\mu\text{g}/\text{kg}$  di matrice alimentare). Gli LMR sono un parametro cruciale per la gestione del rischio. Il rispetto degli LMR garantisce infatti che l'assunzione complessiva di residui attraverso la dieta non superi l'ADI, anche tenendo conto di possibili "picchi" di esposizione attraverso una stima per eccesso del consumo (ad esempio, per i farmaci usati in zootecnia si presuppone un consumo di 300 g/giorno di carne contenente residui della sostanza in esame al livello di LMR).

La valutazione di ADI e LMR è un processo che dipende dallo stato dell'arte della tossicologia; non può quindi essere considerato come fissato una volta per tutte, ma deve essere periodicamente modificato per permettere di introdurre nell'attività regolatoria gli sviluppi ed i problemi più recenti.

Un concetto importante nella valutazione dell'ADI è che tale valore deve assicurare un'adeguata protezione non solo ad un ipotetico "individuo medio" ma a eventuali sottogruppi di popolazione identificati come più suscettibili per quella specifica molecola o gruppo di molecole. In particolare, le attuali conoscenze in tossicologia indicano che l'infanzia può rappresentare una

popolazione particolarmente suscettibile a diverse molecole con effetti sul sistema nervoso, endocrino, immunitario, ecc. Di conseguenza, una delle principali, recenti preoccupazioni in ambito regolatorio è che gli LMR stabiliti dalle agenzie internazionali possano non essere sufficientemente protettivi per gli alimenti per l'infanzia. Sin dal 1987 il *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* ha indicato che l'ADI per un determinato additivo alimentare o residuo non era adatto alla valutazione del rischio per i neonati (sino a 12 settimane), pur senza proporre approcci alternativi. Negli ultimi anni la ricerca in campo tossicologico e le agenzie preposte alla regolamentazione delle sostanze chimiche hanno mostrato un crescente interesse nei confronti della caratterizzazione di possibili danni a lungo termine sullo sviluppo. Recentemente il gruppo di lavoro dell'OECD "*Endocrine Disrupter Testing and Assessment*" ha identificato gli effetti sullo sviluppo neonatale e postnatale tra i parametri più importanti per la valutazione del rischio di xenobiotici con potenziali effetti sul sistema endocrino (*Endocrine Disrupters, ED*) (1).

L'esigenza di assicurare un'adeguata protezione per la prima infanzia si riflette nella Direttiva UE 98/36/CE della Commissione (2 giugno 1998), recepita in Italia mediante il DPR del 7 aprile 1999. Questo regolamento è indirizzato

ai prodotti alimentari specifici, sia quelli destinati ai lattanti (meno di 12 mesi di età) nel periodo dello svezzamento sia quelli per completare la dieta dei bambini fino a 3 anni di età. Oltre ad importanti disposizioni nel campo della qualità nutrizionale, la normativa stabilisce che i prodotti per l'infanzia: "devono essere fabbricati con ingredienti la cui idoneità all'alimentazione particolare dei lattanti e dei bambini sia stata confermata da dati scientifici generalmente accettati" (art. 3, comma 1); "non devono contenere residui di antiparassitari superiori a 0,01 µg/kg" né prodotti geneticamente modificati (art. 3, comma 2). Il regolamento non menziona esplicitamente i residui di sostanze utilizzate in zootecnia, per quanto i prodotti di origine animale possano essere una componente importante di numerosi tipi di alimenti per l'infanzia (allegato II): questo punto potrebbe essere quindi suscettibile di ulteriore miglioramento. Infine, i prodotti "non devono contenere alcuna sostanza in quantità tale da poter nuocere alla salute dei lattanti o dei bambini" (art. 6).

La normativa europea fornisce una risposta pragmatica ad un'urgente e importante richiesta di assicurare un'adeguata protezione dell'infanzia nei confronti dei contaminanti alimentari. E' per altro evidente che per un approccio realmente cautelativo a questo problema sarà necessario l'ulteriore sviluppo di parametri e criteri per la valutazione e gestione del rischio rivolti specificamente all'infanzia. In primo luogo occorrerà affrontare due domande correlate ma distinte:

a) l'attuale valutazione dell'ADI è sufficientemente cautelativa nei confronti dell'infanzia?

b) la gestione del rischio attraverso la definizione di LMR è un

approccio adeguato per gli alimenti destinati all'infanzia?

Varie considerazioni, che verranno esposte nei paragrafi successivi, suggeriscono che è necessaria una valutazione più accurata dei limiti tollerabili di contaminanti negli alimenti per l'infanzia, e che tale valutazione dovrà tenere conto sia del profilo tossicologico delle molecole che di specificità relative all'assunzione di alimenti, e quindi alla stima dell'esposizione (2, 3).

*La valutazione dell'ADI e i rischi per lo sviluppo postnatale*

L'organismo del bambino non può essere considerato una "miniatura" di quello adulto, ma presenta caratteristiche specifiche che lo possono rendere più suscettibile all'azione di sostanze tossiche. E' noto che l'esposizione precoce di un apparato in via di sviluppo ad un danno chimico può provocare ritardi persistenti e non reversibili, anche se poco appariscenti nell'immediato. L'infanzia è una fase caratterizzata da crescita e maturazione fisiche e psicologiche, e perciò deve essere considerata un periodo di suscettibilità particolarmente elevata agli xenobiotici; una particolare attenzione va attribuita agli ED, dato il ruolo fondamentale della omeostasi del sistema endocrino nelle prime fasi della vita. Inoltre, sono possibili effetti specifici sullo sviluppo postnatale di organi e sistemi; infatti diversi importanti apparati completano il proprio sviluppo dopo la nascita (4). I punti critici per la valutazione del rischio tossicologico possono quindi essere rappresentati dagli effetti sullo sviluppo neurologico, endocrino, riproduttivo e immunologico. Ad esempio, nel cervello la migrazione corticale e la proliferazione neuronale si comple-

tano, rispettivamente, a 5 mesi e 12 mesi di età, mentre la mielinizzazione si compie a 2 anni di età; inoltre, alla nascita, il cervello presenta una minore funzionalità della barriera emato-encefalica ed un maggiore flusso ematico e, quindi, è potenzialmente più esposto agli xenobiotici. Inoltre, l'organismo presenta una cinetica degli xenobiotici (ad esempio, legame alle proteine plasmatiche, attività del citocromo P-450) approssimativamente uguale a quella dell'adulto solo a partire dallo svezzamento; ad esempio, le funzioni escrettrici epatica e renale sono mature, a 6-12 mesi di età. In generale, il neonato umano è più maturo alla nascita rispetto ai piccoli dei comuni roditori da laboratorio, ma il suo sviluppo postnatale è molto più lento e conseguentemente presenta una fase di suscettibilità a danni allo sviluppo più prolungata rispetto ad altre specie.

Lo studio a 2 generazioni (*Linea guida OECD 416*, in corso di revisione) è l'unico studio standard in cui animali da esperimento vengono esposti per l'intera durata dello sviluppo pre- e postnatale, dallo stadio di gamete fino alla maturità sessuale. Questo test viene considerato particolarmente importante per la definizione di un ADI per gli ED; più in generale, la disponibilità di uno studio a due generazioni è indispensabile per poter definire uno ADI per pesticidi e farmaci zootecnici, secondo le direttive della Unione Europea. Tuttavia, non tutti gli studi a due generazioni sono completamente adeguati per una completa valutazione dei potenziali effetti per lo sviluppo postnatale; infatti, l'attuale revisione in corso, in sede OECD, mira ad aggiornare il protocollo per permettere una migliore identificazio-

ne delle alterazioni dello sviluppo neurologico od ormonale, qualora un potenziale per tali effetti venga indicato da studi più a breve termine od altre informazioni (ad esempio, effetti indotti da molecole della stessa classe chimica). Esempi di tali potenziali fra i pesticidi (5) sono il vinclozolin o i triazololi per gli effetti sugli steroidi sessuali, le diverse molecole (ad esempio, amitrolo, etilene bisditiocarbammati) con attività tireostatica, gli organofosforici ed i piretroidi per la neurotossicità. E' chiaro che l'esame di parametri specifici per determinati gruppi di molecole può portare a una valutazione più sensibile rispetto ai comuni indicatori di impatto sul ciclo riproduttivo (fertilità, crescita e mortalità nelle nidiate, ecc.), cioè a poter identificare la presenza di eventuali effetti a dosi inferiori e quindi ad abbassare il NOEL.

In conclusione, una valutazione dell'ADI adeguatamente protettiva nei confronti dell'infanzia dovrà basarsi sugli studi di tossicità riproduttiva a due generazioni, ma dovrà anche tenere conto del profilo tossicologico complessivo della molecola. Ad esempio, un incremento del fattore di sicurezza (ad esempio, da 100 a 1 000) deve essere considerato nel caso che esista un potenziale tossicologico importante per lo sviluppo postnatale, ma non sufficientemente studiato o per il quale non sia disponibile un NOEL affidabile. I limiti di tolleranza negli alimenti destinati all'infanzia dovranno essere compatibili con tale valore; in ogni caso, tali limiti dovrebbero essere considerati come provvisori, in attesa che siano disponibili linee guida aggiornate per test tossicologici finalizzati alla valutazione degli effetti sullo sviluppo perinatale.

*Criteri per la definizione di LMR negli alimenti destinati all'infanzia*

Gli LMR devono assicurare un'assunzione della molecola valutata che sia compatibile (cioè inferiore o tutt'al più uguale) con l'ADI. Tale assunzione (*Theoretical Maximum Daily Intake*) viene misurata con stime teoriche, cautelative, dei consumi alimentari giornalieri medi di un adulto di 60 kg di peso; viene inoltre assunto che i residui della molecola considerata siano presenti ai livelli massimi ammissibili (cioè gli LMR) in tutti gli alimenti di base per i quali si prevede una potenziale esposizione (ad esempio, le carni ed il latte per un farmaco zootecnico utilizzato nei bovini). Si tratta, quindi, di una valutazione abbondantemente cautelativa per l'individuo adulto; questo fa sì che un modesto superamento degli LMR abbia il valore di segnale per un possibile problema, ma non di un immediato rischio per la salute. Nonostante ciò un primo problema deriva dalla modalità di calcolo degli LMR; questi sono stabiliti in modo tale da essere compatibili con l'ADI di un adulto di 60 kg (quindi con un valore di ADI, espresso come mg o µg/kg p.c., moltiplicato per 60). Tuttavia, per un bambino di 4 mesi del peso di 6-7 kg, l'ADI dovrebbe essere un decimo di quello nell'adulto; conseguentemente, gli LMR stabiliti per gli alimenti destinati alla prima infanzia dovrebbero essere compatibili con tale valore. Tale ragionamento, per quanto efficace nella sua semplicità, è di valore limitato. Infatti, anche nel caso dell'assunzione di alimenti il bambino non può essere considerato un piccolo adulto, ma merita un'attenzione specifica (6):

- il consumo relativo al peso corporeo è maggiore (di 3-4 volte) nel bambino rispetto all'adulto;
- la varietà di alimenti consumata è più ridotta (ad esempio, il latte e la frutta sono ingredienti molto più presenti nella dieta dell'infanzia rispetto a quella dell'adulto), quindi
- la potenziale esposizione a residui è maggiore, in particolare se presenti in determinati alimenti;
- oltre che quantitativamente maggiore, la potenziale esposizione a residui in determinati ingredienti, molto rappresentati nell'alimentazione infantile, può essere più prolungata e/o più continua.

Queste differenze quantitative e qualitative sono particolarmente evidenti nella fase di vita (4 mesi - 2 anni di età) in cui avviene il consumo di alimenti specifici destinati alla prima infanzia. In accordo con queste considerazioni, nel 1998 il Comitato scientifico dell'Alimentazione Umana dell'Unione Europea ha raccomandato che la stima dell'assunzione di alimenti da parte dei bambini sia considerata separatamente dagli adulti; inoltre, il Comitato ha ribadito che va attribuita una speciale attenzione agli additivi e contaminanti presenti nelle formule per neonati sino alle 12 settimane (*Opinion on the applicability of the ADI for food additives to infants*, 17/09/1998; <http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scf>). Per contro, il Comitato non ha finora preso una decisione definitiva sui parametri da seguire per la stima dell'assunzione di alimenti nell'infanzia.

In sintesi, la recente letteratura scientifica indica due direzioni in cui le agenzie regolatorie devono muoversi:

- la definizione di criteri e parametri per la valutazione di ADI e LMR in alimenti importanti di con-

sumo generale (ad esempio, latte, frutta) che siano adeguatamente protettivi non solo per gli adulti, ma anche per i bambini;

- la definizione di LMR specifici, maggiormente cautelativi, negli alimenti destinati alla prima infanzia.

Uno sforzo coordinato delle agenzie regolatorie nazionali e internazionali per la prevenzione dei possibili rischi per l'età evolutiva derivanti da contaminanti alimentari rappresenta sicuramente un importante valore sociale, oltre che sanitario. Tuttavia, il problema della reale esposizione ai residui va affrontato senza inutili allarmismi o esagerazioni. E' difficile, infatti, che un pesticida venga correntemente utilizzato su molti tipi di vegetali, o che più pesticidi vengano correntemente utilizzati sullo stesso vegetale. Per i farmaci zootecnici, che pure possono venire usati per trattamenti di massa, è nell'interesse stesso del produttore non incorrere nelle maglie della vigilanza dei servizi veterinari (che deve effettuarsi sia in azienda che sui prodotti) rispettando i tempi di sospensione, cioè il lasso di tempo che deve intercorrere tra l'avvenuto trattamento farmacologico e l'utilizzo dei prodotti degli animali trattati (macellazione, mungitura, ecc.).

Per contro, residui di molecole diverse di origine ambientale posso-

no essere compresenti nel latte bovino (soprattutto nella frazione grassa, per composti quali organoclorurati, certi organofosforici e piretroidi), nel miele ed anche nell'acqua potabile. Va ricordato, inoltre, che svariati tipi di molecole (organofosforici, triazoli, ecc.) possono essere utilizzati sia come prodotti fitosanitari che come farmaci zootecnici, infine, come pesticidi ad uso non agricolo (biocidi); per tale motivo, residui di differente origine possono essere compresenti non tanto nel singolo alimento, quanto nella dieta considerata nel suo complesso.

L'intero processo della valutazione del rischio potrà quindi andare incontro ad importanti modificazioni in seguito all'incremento delle conoscenze sulle interazioni fra sostanze con analogo meccanismo e/o bersaglio (7) ed al miglioramento degli approcci per una stima dell'assunzione di contaminanti attraverso gli alimenti.

#### Bibliografia

1) Mantovani A., Stazi A.V., Maranghi F., Macri C., Ricciardi C. (1999). Problems in testing and risk assessment of endocrine disrupting chemicals with regard to developmental toxicology. *Chemosphere*, **39**: 1293-1300.

2) Schilter B., Renwick A.G., Huggett A.C. (1996). Limits for pesti-

cides in infant foods: a safety-based proposal. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **24**: 126-140.

3) Larsen J.C., Pascal G. (1998). Workshop on the applicability of the ADI to infants and children: consensus summary. *Food. Add. Contam.*, **15**(Suppl.): 1-9.

4) Ostergaard G., Knudsen I. (1998). The applicability of the ADI (Acceptable Daily Intake) for food additives to infants and children. *Food. Add. Contam.*, **15**(Suppl.): 63-74.

5) Danish Environmental Protection Agency. (1995). *Male reproductive health and environmental chemicals with estrogenic effects*. Miljøprojekt n. 290. Ministry of Environment and Energy, Copenhagen.

6) Lawrie C.A. (1998). Different dietary patterns in relation to age and the consequences for intake of food chemicals. *Food. Add. Contam.*, **15**(Suppl.): 75-81.

7) Ricciardi C., Macri C., Maranghi F., Stazi A.V., Mantovani A. (1998). Effetti tossici di miscele chimiche sullo sviluppo prenatale: esempi di modelli sperimentali e problemi relativi alla valutazione del rischio. *Ann. Ist. Super. Sanità*, **34**: 519-527.

*Il presente lavoro è stato elaborato nell'ambito del Progetto "Sicurezza d'uso dei pesticidi" (art. 12 Dlvo 502 del 1992).*

## Notiziario

dell'Istituto Superiore di Sanità

Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità e Responsabile scientifico: **Giuseppe Benagiano**

Direttore responsabile: **Vilma Alberani**; Redazione: **Paola De Castro, Carla Faralli**

Composizione, Stampa e Distribuzione: **Patrizia Mochi, Massimo Corbo**

Realizzazione in Internet (<http://www.iss.it/pubblicazioni/notiziar.htm>): **Marco Ferrari**

Redazione, Amministrazione e Stampa: Istituto Superiore di Sanità, Servizio per le attività editoriali, Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma

Tel. 0649901 - Telex 610071 ISTSAN I - Telegr. ISTISAN - 00161 Roma - Telefax 0649387118

Iscritto al n. 475/88 del 16 settembre 1988. Registro Stampa Tribunale di Roma

© Istituto Superiore di Sanità 1999 - Numero chiuso in redazione il 30 settembre 1999