

CONSIDERAZIONI GENERALI SULLA PROBLEMATICHE DELLE MICOTOSSINE

Carlo Brera

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

Introduzione

Le micotossine rappresentano ancora oggi un serio problema di salute pubblica e animale per diversi aspetti. Sebbene sia notevolmente aumentata l'attenzione verso questa problematica, rimangono ancora in attesa di risoluzione alcuni aspetti fondamentali.

Il deterioramento delle colture a causa degli attacchi fungini, possono comportare gravi conseguenze economiche con perdite quantitative nei raccolti (25%) (1), e costi associati alle misure preventive o correttive da parte degli operatori del sistema agro-alimentare. L'esposizione umana alle micotossine deriva prevalentemente dal consumo di alimenti di origine vegetale contaminati o di origine animale come latte, carne e uova in virtù del trasferimento delle micotossine e dei loro metaboliti dai mangimi ai prodotti edibili. Una via di assunzione parallela, sia per gli animali che per l'uomo, è quella ambientale, derivante dalla inalazione di polveri di materie prime potenzialmente contaminate dalle micotossine, come i cereali e le spezie. Pertanto, la contaminazione da micotossine rappresenta un serio problema per la salute dell'uomo e per il benessere degli animali, in tutte le fasi della catena alimentare, dal campo alla tavola.

Nonostante quanto detto in premessa, ho voluto condividere in apertura di Congresso la mia posizione con quella dei partecipanti al fine di individuare una risposta al quesito: le micotossine rappresentano un rischio reale per il consumatore e per le specie animali?

Per alimentare il dibattito ho posto alcune domande, di seguito riportate, che ancora oggi non trovano risposte esaustive, in quanto non adeguatamente supportate da evidenze scientifiche.

Siamo in grado di effettuare una associazione diretta tra patologia ed eziologia delle patologie che ricorrono nei Paesi industrializzati?

Le nostre ricerche hanno individuato il pattern metabolico delle micotossine, indispensabile per una corretta caratterizzazione del rischio?

Siamo in grado di valutare quantitativamente gli effetti sinergici o additivi derivanti dalla co-presenza di più micotossine nella nostra dieta?

Siamo in grado di caratterizzare il rischio per la salute dei bambini dai 3 ai 10 anni derivante dai prodotti alimentari che hanno limiti massimi per le micotossine, pensati però per la popolazione adulta?

Possiamo con certezza escludere un rischio derivante dalla presenza, ampiamente documentata in letteratura, delle micotossine in taluni prodotti alimentari che sono ancora attualmente non regolamentati? Come fare per acquisire questa informazione?

Tra i vari approcci utilizzati dai ricercatori per valutare la esposizione del consumatore abbiamo individuato quello più attendibile? O sono tutti attendibili allo stesso modo?

In alcuni casi (citrinina, alcaloidi dell'ergot, alternaria, T2/HT2) la quantità e la qualità dei dati disponibili non è sufficiente a formulare una opinione sul rischio associato. Qual è la ragione principale?

Esiste un “sistema” riconosciuto che operi in modo coordinato per declinare in modo appropriato i vari risvolti della valutazione del rischio?

Effetti tossici nell'uomo

Sebbene gli studi sugli animali abbiano fornito chiare indicazioni sui processi di interazione delle micotossine *in vivo*, non sono ancora state altrettanto ben definite le interazioni e i meccanismi di biotrasformazione nell'uomo. Attualmente, la ricerca deve ancora individuare con maggiore precisione i profili metabolici che caratterizzano le varie micotossine assunte con la dieta e che vengono poi trasformate, convertite ed eliminate dall'organismo sotto forma di metaboliti. Questa mancanza rende, pertanto, la valutazione del rischio per l'uomo un esercizio che in alcuni casi è in grado di dare una risposta quantitativa solo parziale. Altro aspetto fondamentale correlato è la mancanza di correlazione tra patologia e ruolo delle micotossine presenti nella dieta come agente eziologico. Infine, si registra una totale mancanza di informazioni legate agli effetti tossici additivi e/o sinergici nell'uomo e negli animali, derivanti dalla assunzione di alimenti contaminati da più micotossine.

Com'è noto, le micotossine sono state associate con un ampio spettro di patologie, sia acute che croniche (epatocarcinoma, epatopatie, cirrosi, tumore all'esofago, difetti del tubo neurale, nefropatia balcanica, beriberi, ergotismo, sindrome di Reye, Kwashiorkor) (2). La citata associazione, soprattutto nei Paesi industrializzati, non assume il significato di correlazione diretta ma solo di osservazione di co-incidenza tra contaminazione da micotossine e sviluppo della patologia. Ciò è dovuto sia alla presenza di molteplici fattori confondenti o concomitanti sia a quella di vari fattori coinvolti in una micotossicosi (fattori genetici, fisiologici, ambientali, oltre ai processi di assorbimento, distribuzione, biotrasformazione ed escrezione della micotossina), che finora hanno reso difficile il riconoscimento diretto del ruolo eziologico delle micotossine nello sviluppo ed evoluzione di talune patologie.

Gli effetti acuti dovuti a ingestione di alti livelli di contaminazione sono finora avvenuti solo nei Paesi in via di sviluppo, dove sussistono ancora problemi concomitanti di *food safety* e *food security*. Numerosi casi riportati sono consultabili in letteratura, dovuti prevalentemente alla ingestione di aflatossina B₁ (India, Malesia, Kenia) con danni a livello epatico (3-5), e di fumonisine e deossinivalenolo con sintomi acuti a livello del sistema gastro-intestinale (6-8). Per quanto attiene la associazione tra zearalenone e menarca precoce, sussistono solo ipotesi non adeguatamente supportate a livello scientifico (9).

Infine, risale all'epoca del Medio Evo il fenomeno dell'ergotismo, riemerso in Etiopia nel 1978, relativo a consumo di prodotti a base di segale contaminata da alcaloidi dell'ergot (10-11).

Patologie croniche sono invece più frequentemente osservate nei Paesi industrializzati, dove i prodotti alimentari sono caratterizzati da bassi livelli di contaminazione, che se assunti con regolarità con la dieta giornaliera possono manifestare patologie molto gravi come le neoplasie, ritardi e/o difetti nella crescita e una sensibile immunodepressione.

Valutazioni, supportate scientificamente, sulla capacità di modificare l'azione del DNA da parte delle micotossine sono, inoltre, ampiamente disponibili.

L'esposizione ad aflatossine è stata, ad esempio, associata alla mutazione 249ser del p53 con un aumento osservato della incidenza di epatocarcinoma di circa 3,5 volte. In uno studio effettuato in Gambia, la mutazione è stata rilevata nel plasma di soggetti apparentemente sani (5%), soggetti affetti da cirrosi (15%) e da epatocarcinoma (40%) (12).

È importante, inoltre, sottolineare che a dispetto di una ampia documentazione sulla esposizione *in utero* alle micotossine, scarsa attenzione è stata data dalla ricerca alla rilevanza di questa esposizione sui danni provocati a livello embrionale e al feto durante la gestazione.

In uno studio condotto nel Regno Unito, è stato descritto l'effetto teratogeno ed embriotossico di almeno 40 micotossine in alcune specie animali (13).

Recenti studi epidemiologici hanno rivelato che un'alta incidenza di difetti del tubo neurale era associata ad una significativa contaminazione da fumonisine di alcuni prodotti a base di mais consumati in alcune regioni del Texas, Cina, Guatemala e di alcuni Paesi del Sud Africa (14).

Poiché è nota l'interferenza che le fumonisine sono in grado di esercitare con il metabolismo dei folati ed è altrettanto nota la relazione tra difetti del tubo neurale e deficienza dei folati, l'ipotesi di un ruolo eziologico delle fumonisine in questa patologia è alquanto verosimile.

Con riferimento ai difetti nella crescita, gli studi sperimentali sugli animali hanno chiaramente dimostrato che la presenza delle micotossine nella razione induce in modo pressoché sistematico il rifiuto del cibo e un conseguente danneggiamento del regolare sviluppo dell'animale (15).

Uno studio condotto nel 2002 in Paesi africani (16) ha evidenziato che in bambini di età compresa tra i 5 mesi e i 9 anni, l'esposizione da aflatossine era accompagnata da arresto della crescita e forte sottopeso. Questo andamento era probabilmente associabile allo stato di malnutrizione durante il periodo di gestazione e conseguentemente anche dopo la nascita. Un'altra condizione molto interessante legata a questo studio era la concomitante alta presenza di malattie infettive, ponendo forti indizi che la co-presenza di questi due fattori acuisce la gravità degli effetti legati a una crescita ritardata.

Infine, relativamente alla sindrome *Kwashiorkor*, non è ancora stato stabilito se una alta incidenza di addotti delle aflatossine nei bambini affetti da questa patologia sia una causa o una conseguenza.

Per quanto riguarda l'effetto di immunosoppressione, è noto che tale effetto tossico sia causato negli animali da pressoché tutte le maggiori micotossine. Anche nell'uomo sussistono evidenze sostanziali che la presenza delle micotossine sia in grado di indurre effetti immunotossici sulla risposta cellulare, sui fattori umorali e sul ruolo delle citochine come mediatori del sistema immunitario.

Per quanto detto, la ricerca in questo settore dovrebbe essere quindi orientata verso lo sviluppo di modelli sperimentali alternativi a quelli derivanti dagli studi sugli animali e finalizzati alla valutazione in vivo degli effetti tossici delle micotossine sulla modulazione della espressione dei fattori che regolano la risposta immunitaria.

Valutazione dell'esposizione

Un nuovo approccio che si sta affacciando è quello legato alla definizione dell'esposoma, vale a dire la totalità delle fonti di esposizione derivanti dagli ambienti e stili di vita, quindi non di natura genetica, cui l'uomo è esposto dalla nascita in poi. La sua declinazione, tuttavia, è ancora lontana dall'essere effettuata in modo sistematico in quanto si tratta di un'analisi alquanto complessa e di lunga durata (17).

Attualmente, per valutare il rischio di esposizione del consumatore derivante dalla presenza delle micotossine nella dieta, sono ancora ampiamente utilizzati approcci deterministici e/o probabilistici, sia attraverso la valutazione della contaminazione nei prodotti alimentari attraverso metodologie diverse come gli studi di dieta totale o la dieta in doppio, o attraverso l'analisi dei biomarcatori nei fluidi biologici (sangue, urine, feci, latte materno).

In tutti i casi citati, sussistono numerose variabilità (quote di consumo, durata della esposizione, tempi di vita attesi, ecc.) e incertezze (processi di estrapolazione all'uomo della dose tossica e la durata dell'effetto, differenti suscettibilità tra uomo e specie animali, così come tra i gruppi di popolazione considerati, stima dei valori inseriti, calcolo, interpretazione e documentazione dei risultati ottenuti) che possono condizionare l'attendibilità dei risultati che si ottengono ed è quindi imperativo, per diminuirne gli effetti, valutarne la loro presenza sia qualitativamente che quantitativamente.

In particolare, per quanto riguarda i biomarcatori di esposizione che si ricercano nei fluidi biologici, condizione necessaria è la loro caratterizzazione quali-quantitativa, per poter correlare la loro presenza, sia sottoforma di tossina principale sia come metabolita, con gli effetti tossici che ne possono derivare.

Ad esempio, per le aflatossine sono stati individuati metaboliti nelle urine (aflatossina M₁, AFB₁-N₇-Gua, aflatossina P₁, aflatossina Q₁ e il coniugato aflatossina B₁-acido mercapturico) e nel siero (addotti aflatossina-albumina).

Le fumonisine, altra classe di micotossine ampiamente diffuse nelle nostre coltivazioni di mais, sono rivelabili nelle urine e nelle feci, principalmente nella loro forma inalterata, in quanto recentemente il biomarcatore di esposizione che è stato ricercato per molti anni, vale a dire l'aumento del rapporto sfinganina/sfingosina come risultato della inibizione dell'enzima ceramide sintasi, non sembra trovare più ampio consenso a favore della più recente individuazione della 1-deossisfinganina per lo stesso effetto inibitore.

Per altre micotossine come lo zearalenone e il deossinivalenolo, sono da ricercare essenzialmente le forme glucosidate (zearalenone-16-O-β-glucoside, zearalenone-4-glucoside, zearalenone-14-glucoside e il deossinivalenolo-3-glucoside) e quelle acetilate, prevalentemente nelle urine (18-20).

Queste forme sono state recentemente oggetto di una opinione della *European Food Safety Authority* (EFSA), che ha formulato, tra l'altro, un nuovo termine per la loro caratterizzazione, vale a dire "micotossine modificate", comprendendo le cosiddette micotossine mascherate, coniugate, nascoste e legate (21).

Anche se sulla base di pochi dati a disposizione, il *panel* CONTAM di EFSA ha stabilito che la tossicità delle forme modificate è comparabile a quella delle micotossine precursori, sulla base della evidenza scientifica che la potenziale tossicità si riferisce al possibile rilascio in vivo dopo idrolisi nel tratto gastrointestinale.

Per quanto detto, la valutazione della esposizione di una popolazione di soggetti, effettuata attraverso la valutazione delle tossine nei fluidi biologici, non può più prescindere dalla valutazione quali-quantitativa di tutte le forme in cui la micotossina è effettivamente presente nell'organismo umano.

Per riprendere una delle domande iniziali, un'ormai pressoché costante osservazione che scaturisce dagli studi di esposizione è che i bambini di età compresa tra i 3 e i 10 anni risultano quasi sempre sovraesposti a livelli che in alcuni casi superano i cosiddetti *Health-Based Guidance Values* (HBGV) anche solo con il consumo di un solo alimento.

Studi di monitoraggio e sorveglianza

Una condizione che è attualmente ancora non pienamente soddisfatta è la quantità e soprattutto la qualità di dati provenienti da studi di monitoraggio e/o sorveglianza che consentano di disporre di una informazione aggiornata e attendibile sullo stato di contaminazione da micotossine nei vari prodotti alimentari nonché negli alimenti zootecnici. Le azioni di controllo, a mio avviso, risentono ancora di una mancanza di strategia nazionale mirata

alla individuazione delle possibili fonti di rischio e alla caratterizzazione del rischio stesso in termini sia quantitativi che qualitativi. Questa lacuna dovrebbe essere colmata dalla predisposizione di un Piano Nazionale di Controllo delle Micotossine che è ancora in embrione ma che dovrebbe essere varato a breve, i cui criteri sono descritti in una presentazione all'interno di questo Congresso.

Inoltre, sarebbe fondamentale acquisire dati di incidenza di contaminazione da micotossine in quei prodotti che non sono attualmente regolati, a livello comunitario, da limiti massimi tollerabili.

Normativa

È doveroso ricordare che la fissazione di un limite massimo tollerabile non è strettamente correlato agli aspetti sanitari legati alla valutazione del rischio quanto piuttosto alla incapacità a livello di filiera di commercializzare prodotti a livelli inferiori a quelli definiti come limiti di legge. Il superamento dei limiti, infatti, di fatto non comportando, tendenzialmente, alcun effetto immediato e grave sulla salute del consumatore, comporta e implica solo l'eventuale ritiro dal commercio, in quanto a quel superamento corrisponde, di fatto, una non appropriata effettuazione delle attività di produzione, vale a dire una non corretta effettuazione delle buone pratiche di coltivazione, stoccaggio, trasformazione e commercializzazione del prodotto alimentare.

Va però anche sottolineato, che, ancora oggi, sussistono vuoti normativi che inspiegabilmente non trovano una loro declinazione, forse anche a causa della mancanza di dati provenienti dagli studi di monitoraggio e sorveglianza come precedentemente osservato. Alimenti come i legumi, gli integratori alimentari ad eccezione del riso rosso fermentato, le erbe infusionali, i prodotti carnei e altri prodotti che entrano in modo significativo nella nostra dieta alimentare sono privi di un limite massimo tollerabile, lasciando una lacuna informativa che non consente di disporre di un quadro completo dei livelli di assunzione da parte del consumatore. Stesso discorso per quanto riguarda gli alimenti zootecnici; come noto, solo l'aflatossina B₁ è regolamentata, mentre per le altre micotossine esistono solo livelli guida secondo la Raccomandazione 576/2006/CE (22). In base alle patologie che ricorrono nelle diverse specie animali, la fissazione di livelli massimi garantirebbe in modo più completo una riduzione o quantomeno un maggior controllo delle patologie soprattutto di specie altamente sensibili, come ad esempio i suini.

Azioni preventive

Come detto, la fissazione di un limite massimo tollerabile, pur non rappresentando un indicatore di rischio reale per la salute del consumatore, costituisce per il produttore una soglia di riferimento a cui prestare la massima attenzione, vista anche la piena responsabilità della sicurezza d'uso degli alimenti, che gli è stata attribuita con il Regolamento (CE) 178/2002 (23).

Per tale ragione, è noto che i livelli di micotossine, come di altri contaminanti, adottati nella maggior parte delle aziende rispondono maggiormente a livelli di azione piuttosto che alla osservanza dei livelli di legge, ove esistenti.

Da sempre, il ricorso alla considerazione che l'adozione di misure preventive è l'unica strategia percorribile per minimizzare il fenomeno si scontra con la difficile applicabilità nelle condizioni reali. Così, nonostante le innumerevoli informazioni che a livello scientifico sono

state prodotte per minimizzare il problema a partire dalla fase pre-raccolto, la mancata conoscenza da parte dell'agricoltore circa le possibili azioni che potrebbe attivare, oppure la difficoltà di acquisire informazioni predittive sull'andamento climatico prima dell'inizio delle campagne di semina, oppure ancora la difficoltà di aprire a scenari maggiormente in linea con una sistematicità di intervento preventivo rende questa problematica ancora non completamente a regime di controllo.

Per contro, non è altrettanto immaginabile “alfabetizzare” il consumatore sui prodotti alimentari maggiormente a rischio, attraverso l'utilizzo di *claims* in etichetta, in quanto finora non è stata ancora effettuata, per quanto attiene la contaminazione da micotossine, una corretta comunicazione del rischio in fatto di origine, tipologia, composizione e probabilità di rischio associato al consumo dei prodotti alimentari che caratterizzano la dieta del consumatore italiano.

Altro punto è che a livello dell'autocontrollo, la principale condizione da rispettare è quella di ottenere risultati in breve tempo (non più di 15 minuti in fase di accettazione). Ciò non risulta possibile senza un concomitante livello di incertezza derivante dalla non rappresentatività dei campioni prelevati e da una precaria linearità della risposta di test rapidi o di screening. Pertanto, ogniqualvolta sia esercitato il controllo del materiale in entrata, dovrebbe essere stata preventivamente assicurata almeno l'attendibilità degli strumenti diagnostici di rapida esecuzione, tramite studi comparativi con metodi di conferma.

Ritengo sia doveroso, inoltre, puntualizzare che è dalla gestione del controllo della presenza delle micotossine subito dopo la fase del raccolto che possono innescarsi strategie pericolose di personalizzazione della conduzione delle attività finalizzate alla riduzione della contaminazione.

Conclusioni

Per quanto detto, si ritiene che la domanda iniziale dovrebbe essere rivolta anche a chi decide le priorità di assegnazione dei fondi per la ricerca, per consentire a chi è responsabile della sicurezza alimentare di acquisire la necessaria informazione per garantire in modo sempre più concreto la tutela della salute del consumatore e di quella degli animali.

La sicurezza alimentare deve, insomma, poter contare su forti investimenti per prevenire il rischio, gestire crisi ed emergenze che si possono venire a creare e assicurare un'attività di controllo contraddistinta da un elevato livello di qualità.

Bibliografia

1. Mannon J, Johnson E. Fungi down on the farm. *New Scientist* 1985;105:12-6.
2. Bryden WL. Mycotoxins in the food chain: human health implications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 2007;16 Suppl 1:95-101.
3. Bhat RV. Aflatoxins: successes and failures of three decades of research. *ACIAR Proceedings* 1991;36:77-82.
4. Lye MS, Ghazali AA, Mohan J, Alwin N, Mair RC. An outbreak of acute hepatic encephalopathy due to severe aflatoxicosis in Malaysia. *American Journal Tropical Medicine Hygiene* 1995;53:68-72.
5. Shephard GS. Mycotoxins worldwide: current issues in Africa. In: Barug D, van Egmond H, Lopez-Garcia R, van Ossenbruggen T, Visconti A (Ed.). *Meeting the mycotoxin menace*. Wageningen, the Netherlands: Wageningen Academic Publishers; 2004. p. 81-8.

6. Bhat RV, Sherry PH, Amruth RP, Sudershan RV. A foodborne disease outbreak due to the consumption of mouldy sorghum and maize containing fumonisins mycotoxins. *Journal of Toxicology Clinical Toxicology* 1997;35:249-55.
7. Luo XY. Outbreaks of moldy cereals poisoning in China. In: *Issues in food safety*. Washington, DC: Toxicology Forum; 1988. p 56-63.
8. Bhat RV, Beedu SR, Ramakrishna Y, Munski KL. Outbreak of tricothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat production in Kashmir Valley, India. *Lancet* 1989;1:35-7.
9. Hagler Jr. WM, Towers NR, Mirocha CJ, Eppley RM, Bryden WL. Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen? In: Summerell BA, Leslie JF, Backhouse D, Bryden WL, Burgess LW (Ed.). *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. St Paul, Minnesota: APS Press; 2001. p. 321-31.
10. Matossian MK. *Poisons of the past*. New Have: Yale University Press; 1998.
11. King B. Outbreak of ergotism in Wollo, Ethiopia. *Lancet* 1979;1:1411.
12. Kirk GD, Lesi OA, Mendy M, Szymańska K, Whittle H, Goedert JJ, Hainaut PE, Montesano R. 249(serr) TP53 mutation in plasma DNA, hepatitis B viral infection, and risk of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2005;24:5858-67.
13. Cawdell-Smith AJ, Edwards MJ, Bryden WL. Mycotoxins and abnormal embryonic development. In: Panter KE, Wierenga TL, Pfister JA (Ed.). *Poisonous plants: global research and solutions*. Wallingford, UK: CABI Publishing; 2007. p. 525-32.
14. Voss KA, Gelineau-vanWaes JB, Riley RT. Fumonisin: current research trends in developmental toxicology. *Mycotoxin Research* 2006;22:61-9.
15. Dersjant-Li Y, Verstegen MWA, Gerrits WJJ. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisins in diets on growing pigs and poultry. *Nutrition Research Reviews* 2003;16:223-39.
16. Gong YY, Cardwell K, Hounsa A, Egal S, Turner PC, Hall AJ, Wild CP. Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: Cross sectional study. *British Medical Journal* 2002;325:20-1.
17. Wild C. Complementing the genome with an “exposome”: the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 2005;14:1847-50.
18. Zitomer NC, Mitchell T, Voss KA, Bondy GS, Pruett ST, Garnier-Amblard EC, Liebeskind LS, Park H, Wang E, Sullards MC, Merrill AH Jr, Riley RT. Ceramide synthase inhibition by fumonisin B1 causes accumulation of 1-deoxysphinganine: a novel category of bioactive 1-deoxysphingoid bases and 1-deoxydihydroceramides biosynthesized by mammalian cell lines and animals. *Journal Biological Chemistry* 2009;284:4786-95.
19. Wild CP, Gong YY. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis* 2010;31(1):71-82.
20. Kovalsky Paris MP, Schweiger W, Hametner C, Stückler R, Muehlbauer GJ, Varga E, Krska R, Berthiller F, Adam G. Zearalenone-16-O-glucoside: a new masked mycotoxin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2014;62(5):1181-9.
21. European Food Safety Authority. Scientific opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal* 2014;12(12):3916.
22. Europa. Raccomandazione 576/2006/CE della Commissione del 17 agosto 2006 sulla presenza di deossinivalenolo, zearalenone, ocratossina A, tossine T-2 e HT-2 e fumonisine in prodotti destinati all'alimentazione degli animali. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 229/7 del 23 agosto 2006.

23. Europa. 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. *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* L 31/1 del 1° febbraio 2002.