



**CONVEGNO INTERNAZIONALE
AMBIENTE, ALIMENTAZIONE E SALUTE:
COME SVILUPPARE UNA COMUNICAZIONE TRASLAZIONALE**

***INTERNATIONAL SYMPOSIUM
ENVIRONMENT, FOOD AND HEALTH:
HOW CAN WE DEVELOP A TRASLATIONAL COMMUNICATION?
CREMONA, 21-22 OTTOBRE 2010***

POSTER BOOK



Premio Lombardia Eccellente nell'ambito del Progetto di
Internazionalizzazione della Professione medico veterinaria: la formazione per la sicurezza alimentare.
Il modello Regione Lombardia

QUANDO IL CONSUMATORE NON SA PIÙ CHE PESCI PRENDERE: COMUNICARE RISCHI E BENEFICI DEL PESCE

Francesca Baldi, Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria – Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare. Istituto Superiore di Sanità, Roma. francesca.baldi@iss.it

Il consumo di pesce è spesso raccomandato quale componente importante di una dieta sana; tuttavia nel nostro paese, benché patria della dieta mediterranea, tale raccomandazione sembra piuttosto disattesa. La spiegazione potrebbe trovarsi nelle differenze regionali riguardo a gusti e tradizioni culinarie ma anche nel costo spesso elevato del pesce e dei frutti di mare in genere (anche se il pesce azzurro, il più consigliato, è molto economico); spesso, però, è anche la preoccupazione per eventuali rischi per la salute derivanti da sostanze contaminanti a farci rinunciare al consumo di alimenti ittici, anche in seguito ad allarmi rilanciati periodicamente dai media. Un rischio concreto è che, tra le sollecitazioni a consumare di più questo alimento e l'evocazione di pericoli per la salute, il consumatore non sappia più che pesci pigliare!

Pesce, crostacei e molluschi sono ricchi di acidi grassi omega-3 (PUFA) e talune vitamine e oligoelementi essenziali (vitamine A, B12 e D, iodio e selenio): una buona assunzione di pesce riduce il rischio cardiovascolare ed aiuta lo sviluppo fetale, soprattutto cerebrale; tuttavia, per la presenza elevata di alcuni contaminanti come il metilmercurio, le diossine, i bifenili policlorurati (PCB) ed **altri meno noti**, ma indicati dall'EFSA quali organostannici, ritardanti di fiamma bromurati (BFR), PFOS/PFOA il consumo di alcune specie ittiche può essere un rischio per la salute.

La concentrazione di questi contaminanti nel pesce varia in funzione della natura del contaminante e del tipo di pesce:

- I contaminanti liposolubili (diossine, PCB, BFR) si trovano soprattutto in pesci grassi quali il salmone e l'aringa. I forti consumatori rischiano di superare la dose settimanale tollerabile provvisoria (PTWI) soprattutto per diossine e composti diossina-simili.

Attenzione: esistono altre fonti di esposizione alimentare ai contaminanti liposolubili: infatti anche i forti consumatori di carne e latticini potrebbero superare la PTWI di diossine e composti diossina-simili, indipendentemente dal consumo di pesce. Quindi sostituire il pesce con la carne non comporta, automaticamente, una riduzione dell'esposizione alimentare a questi contaminanti.

- Il Metilmercurio non dipende invece dal contenuto di grasso del pesce; è maggiormente presente nei grandi pesci predatori (pesce spada, tonno, luccio). Anche in questo caso i forti consumatori rischiano di superare la PTWI.

I benefici derivanti dal consumo di una/due porzioni di pesce la settimana, sarebbero superiori ai possibili danni alla salute derivanti dai contaminanti. Soprattutto se il pesce è ricco di PUFA (EPA, DHA: uova di pesce, salmone). Tra i possibili danni alla salute vi sono quelli derivanti dall'eliminazione del pesce dalla dieta: mancato effetto protettivo cardiovascolare e conseguenze negative per lo sviluppo cerebrale infantile, anche per la riduzione dell'apporto di iodio.

Si necessitano **ulteriori studi** per mettere in luce la correlazione tra nutrienti e contaminanti come componenti dello stesso alimento che *potrebbero interagire fra loro*; Il database EDID (Endocrine disrupting chemicals - Diet Interaction Database), consultabile dalla home page <http://www.iss.it/inte>, si occupa di queste interazioni.

Conclusioni

Efficace comunicazione del rischio (CR) per prevenire i rischi e massimizzare i benefici derivanti dal consumo di pesce.

Un valido esempio è la CR dello US-EPA, diretta al consumatore attraverso l'uso di una terminologia semplice, con interessanti brochure informative scaricabili ed indirizzata anche ai bambini.

Cercare di "imitare" questo tipo di CR anche in Italia è auspicabile per "formare" il consumatore e metterlo in grado di contribuire consapevolmente ad una efficace prevenzione che ridurrà le malattie di domani e, quindi, i costi del Sistema Sanitario Nazionale.

VALUTAZIONE DELL'AZIONE ANDROGENICA DI UNA MISCELA DI CINQUE PESTICIDI UTILIZZATI NELLA AGRICOLTURA BRASILIANA MEDIANTE TEST MODIFICATO DI HERSHBERGER: RISULTATI PRELIMINARI

¹MARTINEZ MF, ¹FRANCHI CAS, ²GODINHO AF, ¹LUVIZUTTO JFL¹, ³MANTOVANI A, ¹de CAMARGO JLV.

mail per corrispondenza: meirefm@fmb.unesp.br

¹Centro di valutazione degli impatti ambientali sulla salute umana - TOXICAM, Facoltà di Medicina, UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasile.

²Centro di Tossicologia (CEATOX), Istituto di Scienze Biologiche, UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasile.

³ Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

Introduzione: Uno degli aspetti di tossicologia ambientale che più ha attirato l'attenzione della comunità scientifica e le autorità incaricate della regolamentazione è l'interferenza endocrina da contaminanti chimici. Nonostante le segnalazioni sulla riduzione della qualità del seme maschile e di aumenti di incidenza di malformazioni riproduttive e alcuni tipi di cancro nei maschi (Toppari et al., 2002), è ancora controverso il possibile rischio di perturbazione del sistema endocrino negli esseri umani agli attuali livelli di uso di sostanze quali alcuni pesticidi. Il Brasile è il primo mercato mondiale per i pesticidi agricoli, e nel 2008 tale consumo totale di 7 miliardi di \$. Molti dei pesticidi di uso vietato o ridotto in molti paesi, come ad esempio organoclorurati, sono usati impropriamente in Brasile, come ha sottolineato il Programma per l'analisi di residui di pesticidi nei prodotti alimentari (PARA) (ANVISA, 2007), portando ad un rischio potenziale della popolazione esposta. **Materiali, metodi e risultati preliminari:** un possibile effetto androgeno o antiandrogeno di una miscela di cinque pesticidi a basse dosi (LOEL/NOEL) è stata valutata mediante test modificato di Hershberger (Tinwell, et al., 2007) in giovani ratti maschi di ceppo Lewis. I pesticidi selezionati sono stati rilevati da ANVISA come contaminanti nei pomodori consumati dalla popolazione brasiliana. Sono stati utilizzati cinque gruppi di animali: **Gruppo 1** – razione basale (RB), senza contaminanti, **Gruppo 2** - controllo positivo: RB + testosterone propionato 1 mg/kg/giorno (TP) s.c, **Gruppo 3:** RB + TP (1 mg/kg/giorno) + flutamida (FM) 3 mg/kg/giorno orale (gavaggio), **Gruppo 4:** TP + miscela dei pesticidi aggiunta alla razione in modo da produrre una esposizione corrispondente ai rispettivi NOEL sulla base del peso corporeo (dichlorvos 0,23 mg/kg, dicofol 0,22 mg/kg, endosulfan 0,6 mg/kg, dieldrin 0,025 mg/kg, permetrina 5,0 mg/kg), **Gruppo 5:** TP + miscela dei pesticidi aggiunta alla razione in modo da produrre una esposizione corrispondente ai rispettivi LOEL/LOAEL (dichlorvos 2,3 mg/kg, dicofol 2,5 mg/kg, endosulfan 2,9 mg/kg, dieldrin 0,05 mg/kg, permetrin 25,0 mg/kg). Dopo di 10 giorni di trattamento, gli animali sono stati sacrificati e gli organi di interesse sono stati prelevati.

Risultati preliminari: il consumo di acqua e mangime, nonché i livelli di acetilcolinesterasi (AChE) non mostrano differenze significative tra i gruppi. Tuttavia, il peso degli animali ed il peso assoluto e relativo dei testicoli erano significativamente ($p > 0,05$) più bassi, mentre i pesi della prostata, vescicole seminali e dell'epididimo erano significativamente più elevati rispetto ai controlli con entrambe le miscele.

Discussione: L'esposizione ai pesticidi non ha alterato significativamente la concentrazione di AChE nel cervello degli animali trattati. Tuttavia, i risultati preliminari indicano che L'esposizione anche a livelli di NOAEL può avere effetto endocrino, ed in particolare un possibile effetto androgeno.

Sostegno finanziario: Agenzie ed enti di ricerca del Brasile FAPESP, CAPES, CNPq, TOXICAM

ARSENICO NELL'AMBIENTE E NELLA CATENA ALIMENTARE: UN'INDAGINE SUL FRUMENTO COME PIANTA TEST PER LO STUDIO DELL'ARSENICO FITODISPONIBILE NEI SUOLI AGRICOLI ITALIANI E QUALE FONTE DI ARSENICO INORGANICO NELLA DIETA

^a *Francesco Cubadda**, *Silvia Ciardullo*, *Marilena D'Amato*, *Andrea Raggi*, *Federica Aureli*

^b *Marina Carcea*

^a *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma*

^b *Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, Via Ardeatina 546, 00178 Roma*

* *francesco.cubadda@iss.it*

Alcune centinaia di campioni di frumento ($n = 726$) provenienti dalla quasi totalità dei distretti agricoli italiani sono stati combinati in 141 campioni composti, omogenei per origine geografica e varietà. La concentrazione media di arsenico in tali campioni è risultata essere di 9 ng g^{-1} , con un intervallo di $2\text{-}55 \text{ ng g}^{-1}$ (materia secca). La variabilità nel contenuto di arsenico (coefficiente di variazione = 91%) è risultata dipendere dall'origine geografica, riflettendo fattori geochimici e ambientali. La variabilità temporale è stata valutata mediante uno studio longitudinale di 3 anni su sette varietà coltivate in 22 aree del nord e centro Italia ($n = 66$). Le variazioni medie annuali del contenuto di arsenico sono risultate essere contenute, con un coefficiente di variazione medio del 23%. Nell'insieme, questi risultati mostrano che la mappatura dell'arsenico fitodisponibile nei suoli agricoli può essere effettuata mediante la determinazione dei livelli di arsenico in campioni di frumento rappresentativi della produzione locale. Le province di Viterbo e Novara sono risultate quelle con una maggiore abbondanza di arsenico fitodisponibile nei suoli agricoli, seguite da Foggia, Brindisi e dalle province venete di Verona, Padova, Treviso e Venezia.

Al fine di indagare la speciazione dell'arsenico nel frumento, i campioni sono stati sottoposti a estrazione chimica e analisi mediante HPLC-ICP-MS. La quasi totalità dell'arsenico nella granella di frumento è presente come As(III) e As(V), con prevalenza della forma trivalente, indicando l'importanza del frumento come fonte di arsenico inorganico nella dieta. Una stima dell'assunzione utilizzando i dati di speciazione di questo studio e i livelli di presenza riportati dall'EFSA mostra che circa la metà dell'intake di arsenico inorganico della popolazione europea (mediana) è ascrivibile agli alimenti derivati dal frumento, fatta eccezione per i gruppi di popolazione la cui alimentazione è basata sul riso o che sono esposti all'arsenico prevalentemente attraverso l'acqua.

SISTEMA DI SCREENING PER LA DETERMINAZIONE DELLA CAPACITÀ ANTIOSSIDANTE DI DIFFERENTI MATRICI DI PANE

Roberto Dragone¹, Laura Ermilov¹, Alberto Mantovani², Silvia Maggioni³, Chiara Frazzoli^{2}*

*¹ Istituto per lo studio dei Materiali Nanostrutturati (ISMN), Consiglio Nazionale delle Ricerche, c/o Dipartimento di Chimica, 'Sapienza' Università di Roma
e-mail: roberto.dragone uniroma1.it*

² Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria, Dipartimento di Sanità Pubblica veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità - Roma

³ Laboratorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente, Dipartimento Ambiente e Salute, "Mario Negri" Istituto di Ricerche Farmacologiche – Milano

Per analizzare e valutare il complesso equilibrio tra nutrienti e sostanze tossiche normalmente presenti negli alimenti di largo consumo, considerate come "matrici complesse", sono necessari nuovi approcci. Un alimento di base quale il pane può contenere sia sostanze bioattive ad azione protettiva sia contaminanti, con interazioni tuttora non note. Le sementi, ad esempio i semi di lino presenti nella composizione di diversi tipi di pane, forniscono sostanze antiossidanti naturali (ad esempio i lignani), ma anche agenti inquinanti; in particolare i semi di lino possono avere un alto livello di cadmio, metallo pesante con potere pro-ossidante associato con la patogenesi di diverse patologie cronico degenerative.

Lo scopo di questa ricerca è determinare la capacità antiossidante 'netta' di pane preparato con farine di grano comune tal quale e in presenza di semi di lino, che conferiscono variabilità nella composizione delle matrici per quanto riguarda le sostanze antiossidanti. I campioni da analizzare sono stati preparati mediante estrazione in solvente acquoso e in solvente organico ai fini di una eventuale correlazione della capacità antiossidante con la natura chimica delle sostanze componenti la matrice pane.

I campioni sono stati analizzati con biosensori elettrochimici a superossido dismutasi utilizzando per la misura sia un solvente acquoso (biosensore SOD/H₂O₂), che organico (biosensore SOD/O₂). Le misure sono state eseguite utilizzando il sistema brevettato di sensori/biosensori multicanale BEST. La determinazione della capacità antiossidante netta è stata calcolata misurando la variazione di concentrazione del radicale superossido nei diversi estratti di pane.

Risultati: non si osserva differenza tra la capacità antiossidante dei due diversi estratti acquosi (pane con e senza semi di lino); l'estratto organico ottenuto dal campione di pane arricchito in semi di lino ha mostrato invece un potere antiossidante nettamente maggiore rispetto al pane non arricchito. Il risultato può essere associato alle proprietà antiossidanti dei lignani ed acidi grassi polinsaturi che sono stati determinati negli estratti di pane. Tali composti sono stati trovati essenzialmente negli estratti organici, in accordo con le loro proprietà chimico-fisiche, e in quantità maggiore negli estratti di pane contenente semi di lino. Nel pane arricchito è stata anche osservata una maggiore concentrazione di cadmio; tuttavia l'effetto antiossidante netto ottenuto nel caso dell'estratto organico prevale sul possibile effetto pro-ossidante del Cd.

L'utilizzo di sistemi di monitoraggio del "potere antiossidante netto" degli alimenti può contribuire alla tutela della sicurezza alimentare dai punti di vista sia di un'augmentata possibilità di controllo nella filiera produttiva sia della comunicazione al consumatore per promuovere scelte consapevoli.

Ringraziamenti

Il presente lavoro è stato eseguito con il supporto del 6th FP network of excellence CASCADE (<http://www.cascadenet.org>) nel quadro delle attività del WorkPackage 19 "Whole grain wheat bread project". Si ringrazia anche l'organizzazione no-profit 'Noodles, Nutrition & Food Safety and Wholesomeness', <http://www.noodlesonlus.org>

PROBLEMATICHE DI INQUINAMENTO DA IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA): DAI BIOINDICATORI ALL'ALIMENTO

Di Serafino G., Perugini M., Visciano P., Giammarino A., Manera M., Herrera Nunez E., Grotta. L., Amorena M.

Università degli Studi di Teramo, Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Unità di Ricerca di Farmacologia e Tossicologia

Le attività antropiche, in termini di urbanizzazione ed industrializzazione, hanno avuto un grosso impatto sull'intero ecosistema, tanto che è sorta l'esigenza di attuare un monitoraggio costante dei diversi comparti che lo costituiscono: aria, acqua e suolo. Viviamo, infatti, in un'epoca che si avvale della produzione di migliaia di molecole di sintesi, volte al miglioramento delle nostre condizioni di vita. E' nostro dovere, per noi e per le generazioni future, controllare e regolare la loro immissione e diffusione nella biosfera, per evitare il verificarsi di danni ambientali rilevanti. In questo contesto, l'uso di bioindicatori nelle attività di monitoraggio ambientale, rappresentano un elemento innovativo nell'ambito delle indagini ecotossicologiche superando i limiti della chimica ambientale e della tossicologia classica (2). L'uso dei bioindicatori risulta essere di estrema rilevanza non soltanto nell'ambito di un monitoraggio ambientale, ma per conoscere e valutare la presenza di idrocarburi policiclici aromatici in alimenti prodotti sia dagli stessi bioindicatori (come nel caso di api e miele) sia costituiti dagli stessi (è il caso dei molluschi bivalvi).

Le caratteristiche che fanno dell'ape un eccellente organismo indicatore dell'inquinamento ambientale, sono essenzialmente i rapporti molto stretti che intrattiene con il mondo che la circonda e molte delle sue caratteristiche morfologiche ed etologiche. Si tratta di un organismo di facile allevamento, quasi ubiquitario e poco esigente in fatto di alimentazione. Ha un'alta mobilità che permette di effettuare numerosi prelievi giornalieri e di perlustrare tutti i settori ambientali riportando in alveare sostanze di varia natura. Mostra una elevata sensibilità alla maggior parte dei contaminanti che capta grazie al suo corpo ricoperto da peli (1). Diversi studi hanno preso in considerazione i molluschi bivalvi come organismi bioindicatori (4). Ciò che fa dei bivalvi degli ottimi bioindicatori è la loro attitudine alla filtrazione che permette loro di ingerire particelle dall'ambiente acquatico e di concentrare tutti i contaminanti ivi presenti. Tale aspetto risulterebbe enfatizzato dalla scarsa capacità metabolica che caratterizza questi organismi viventi, tanto da non essere permessa una rapida ed efficiente eliminazione dei composti accumulati (3). La problematica dell'inquinamento da IPA è stata, dunque, particolarmente sentita in questi ultimi anni; in questo senso scopo della nostra ricerca è stato quello di monitorare i livelli di tali contaminanti nel comparto ambientale e di studiarne il trasferimento in diverse categorie di alimento.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Accorti M., Persano Oddo L., 1986, Un servizio di monitoraggio ambientale urbano: "Apincittà". L'Inf. Agr., 42: 39-41.
- (2) Fossi M.C., 2000, Biomarkers: strumenti di diagnosi e prognosi ambientale. Rosini editrice.
- (3) Lake J., Hoffmann G.L., Schimmel S.C. (1985), Bioaccumulation of contaminants from black Rock Harbor dredged material by mussels and polychaetes, Tech. Rep. D, 85, 2.
- (4) O'Connor T. P., 1998, Mussel Watch results from 1986 to 1996. Marine Pollution Bulletin, 37: 14-19.

DETERMINAZIONE DELLA DISTRIBUZIONE SPAZIALE DI DIOSSINE NEL LATTE BOVINO

Herrera Nuñez E.G.¹, Esposito M.², Giammarino A.¹, Baldi L.², Rosato G.³, Cavallo S.⁴, Pellicanò R.⁴, Serpe F.P.², Turno P.⁵, Amorena M.¹

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Teramo. ²IZS del Mezzogiorno. ³Settore Veterinario Assessorato alla Sanità regione Campania. ⁴ORSA Campania. ⁵Libero Professionista.

Le diossine sono sostanze che contengono atomi di cloro ed appartengono al gruppo dei cosiddetti contaminanti organici persistenti. A causa della loro presenza ubiquitaria nell'ambiente, persistenza e liposolubilità, le diossine tendono, nel tempo, ad accumularsi negli organismi viventi. Inoltre, salendo nella catena trofica (alimentare), la concentrazione di tali sostanze può aumentare (biomagnificazione), giungendo ad esporre a rischio maggiore il vertice di detta catena.

Tra gli effetti di questi composti si possono menzionare le alterazioni al sistema endocrino, riduzione della fertilità, delle capacità di sviluppo e quelle di immunodifesa oltre che l'insorgenza di tumori. L'esposizione dell'uomo alle diossine ha luogo principalmente attraverso la dieta, e dentro questa la carne, il pesce e i prodotti lattiero caseari rappresentano le fonti più importanti.

Nell'ultimo decennio sono stati condotti innumerevoli studi volti a chiarire non solo il grado di contaminazione delle principali matrici alimentari, ma anche ad individuare le aree geografiche maggiormente interessate da tale inquinamento. In questo caso, la geostatistica e i GIS (geographical information system) rappresentano un approccio vantaggioso per lo studio della contaminazione con diossine, in quanto spazio e territorio sono fondamentali per studiare i fenomeni che vi accadono. Inoltre, i GIS costituiscono la base per integrare, attraverso le coordinate geografiche, dati di fonti diverse. Ciò nonostante, in Italia manca una mappatura della presenza di diossina non solo nel latte vaccino ma nella più estesa catena alimentare. Questo lavoro, perciò, ha avuto come obiettivo, quello di contribuire, attraverso tecniche geostatistiche, con la creazione di mappe della contaminazione del latte vaccino con diossine.

La migliore mappa fu ottenuta utilizzando il metodo di Kriging, utilizzando un semivariogramma sferico, un lag size di 2700m, 12 lags e un angolo di 53,5° in direzione nord-est e utilizzando 15 punti circostanti per fare le interpolazioni. La mappa risultante evidenzia come sia la zona del sud di Caserta quella che presenta i valori più alti di contaminazione. La cross-validation ha evidenziato un RMSE di 0,52. Questo lavoro apporta una contribuzione identificando le aree con più contaminazione e quindi ad essere controllate, anche se non sono stati trovati valori fuori norma. Di conseguenza, il campionamento per la sorveglianza può essere più obiettivo mirando quelle zone identificate e riducendo così i costi di analisi.

Bibliografia

- 1) D. Belpommea, P. Irigarayb, L. Hardellc, R. Clappd, L. Montagniere, S. Epsteinf, A.J. Sascog. (2007) *Environmental Research* 105: 414–429.
- 2) Diossine Furani e PCB (2006) Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici.
- 3) Mamontova, E.; Tarasova, E.; Mamontov, A.; Kuzmin, M.; McLachlan, M.; Khomutova, M. (2007) *Chemosphere* 67: S71-S78.
- 4) Hettinga, K.; Van Valenberg H.; Van Hooijdonk A. (2008) *International Dairy Journal* 18: 506-513.
- 5) Esposito M, Serpe FP, Neugebauer F, Cavallo S, Gallo P, Colarusso G, Baldi L, Iovane G, Serpe L. 2010 *Chemosphere* 79(3):341-8.
- 6) Castrignanò, A. e Buttafuoco, G. (2004) *Analisi spaziale mediante tecniche geostatistiche*.

CONTAMINAZIONE DEL LATTE OVINO CON PCB: STUDIO DELLA RELAZIONE CON LA CONTAMINAZIONE DEL SUOLO

E. Herrera¹, M. Esposito², L. Baldi⁴, G. Rosato³, G. Colarusso⁴, S. Cavallo⁴, R. D'ambrosio⁴, F. Serpe², P. Turno⁵, M. Amorena¹

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Teramo. ²IZS del Mezzogiorno. ³Settore Veterinario Assessorato alla Sanità regione Campania. ⁴ORSA Campania. ⁵Veterinario Libero Professionista.

Secondo le norme ISO 9000, la qualità è "l'insieme delle caratteristiche di un prodotto o di un servizio che conferiscono ad esso la capacità di soddisfare esigenze espresse o implicite". Oltre a questo, negli alimenti però è anche indispensabile l'assenza di sostanze pericolose per la salute. Per soddisfare questo principio, si realizzano numerosi analisi di laboratorio, a volte molto costosi e che anche a volte richiedono di un determinato tempo per poter valutare i risultati.

I contaminanti organici persistenti, come i PCB, sono composti tossici e persistenti, che si accumulano nei tessuti adiposi degli animali e durante il periodo di allattamento vengono secreti nel latte. Il latte di pecora, di cui si ottengono diversi tipi di formaggi altamente consumati, contiene una quantità di grasso, più che doppia rispetto a quella nel latte vaccino e quindi rappresenta una fonte importante di PCB per l'uomo.

Le pecore mentre pascolano ingeriscono una quantità considerevole di terra assorbendo così gli inquinanti presenti nel terreno. Purtroppo, il suolo è un serbatoio naturale per i PCB; queste sostanze si accumulano lì per lunghi periodi di tempo e tramite evaporazione vengono rilasciati e assorbiti dalla vegetazione presente come per esempio l'erba. Il rapporto tra la ingestione di suolo contaminato e i livelli di contaminazione riscontrata nel latte di vacche è stato studiato in passato, trovando in molte occasioni risultati che si contraddicono. La relazione tra queste due variabili non è stata analizzata però considerando la posizione geografica degli animali e quella del suolo.

Questo lavoro si è focalizzato nella relazione esistente tra la contaminazione del latte di pecora e la contaminazione del suolo, ma non solo come via di contaminazione attraverso la dieta ma come matrice rappresentativa della contaminazione ambientale totale. Addizionalmente, l'influenza dell'altitudine nella contaminazione del suolo e del latte è stata studiata in quanto in alcuni lavori si evidenzia una relazione tra queste variabili.

I risultati ottenuti evidenziano che la relazione tra il suolo ed il latte non è sempre uguale e che varia d'accordo all'altitudine. L'altitudine però non ha una relazione lineare semplice con le altre variabili. Si sono identificate tre tipi di aree, quelle al livello del mare, quelle a quota media e quelle ad alta quota, ottenendo dei valori di R^2 di 0.67, 0.70 e 0.82 rispettivamente tra la contaminazione del suolo e quella del latte.

Il contributo di questo lavoro è quello di affermare che esiste un alto livello di correlazione tra la contaminazione del suolo e quella del latte. Tramite l'identificazione delle aree con livelli di contaminazione del terreno elevato o comunque con livelli anche medi, questo lavoro contribuisce all'identificazione delle zone ad essere messe sotto controlli adeguati per ottenere prodotti lattiero caseari di qualità.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- WHO. Regional Office for Europe (2000). Air Quality Guidelines – Second Edition. Chapter 5.10 PCBs.
- Costera A., Feidt C., Marchand P., Le Bizec B., Rycken G. (2005), Chemosphere; vol. 64 (4): 650-657.
- Iannuzzi L, Perucatti A, Di Meo GP, Polimeno F, Ciotola F, Incarnato D, Peretti V, Caputi-Jambrenghi A, Pecoraro A, Manniti F, D'Alessandro, Vonghia. (2004), Mutagenesis; 19 (5): 355-359.
- Perucatti A, Di Meo G.P., Albarella S, Ciotola F, Incarnato D, Caputi Jambrenghi A, Peretti V, Vonghia G, Iannuzzi L. (2006), Mutagenesis; 21: 67-75.
- Wang P., Zhang Q., Wang Y., Wang T., Li X., Li Y., Ding L., Jiang G. (2009), Chemosphere; vol 76: 1498-1504

MODELLI SPERIMENTALI PER VALUTARE IL RISCHIO DI ESPOSIZIONE NEONATALE A INTERFERENTI ENDOCRINI IN ALIMENTI PER L'INFANZIA

C. La Rocca, S. Tait, A. Mantovani

Rep. Tossicologia Alimentare e Veterinaria, Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma
cinzia.larocca@iss.it

Gli interferenti endocrini (IE) sono sostanze che possono interferire con il sistema endocrino dell'individuo provocando effetti avversi sulla salute di un organismo. Molti contaminanti ambientali sono stati identificati quali possibili fattori di rischio di possibili danni a lungo termine per la riproduzione e lo sviluppo. L'esposizione umana a interferenti endocrini, in particolare a contaminanti ambientali, avviene principalmente attraverso gli alimenti. L'infanzia, per le sue caratteristiche di immaturità nello sviluppo di alcuni sistemi, rappresenta una delle fasce più vulnerabili e suscettibili all'azione degli IE. Il progetto BABYFOOD, nell'ambito del Network of Excellence "CASCADE", ha valutato l'esposizione infantile, dalla nascita ai primi anni di vita, studiando la modulazione dei recettori nucleari, in seguito all'assunzione degli alimenti per l'infanzia presenti in commercio. In particolare, al fine di tutelare la salute dei bambini non allattati al seno, vengono studiati campioni di latte in polvere (completo, ipoallergenico e di soia) selezionati in base alle stime di vendita e di consumo per tipo e per marca.

Per rendere possibile la comparazione dei risultati ottenuti dallo studio delle matrici alimentari, CASCADE ha selezionato quattro sostanze modello (Bisfenolo A, Vinclozolin, 2,3,7,8 Tetraclorodibenzo-p-diossina, Genisteina) il cui meccanismo d'azione sia esemplificativo di una particolare interazione con diversi recettori nucleari.

Il nostro studio ha messo a punto un sistema *in vitro* composto di due linee cellulari rappresentative di organi del sistema digerente quali fegato e colon (rispettivamente HuH6 e DLD-1) in grado di evidenziare gli effetti sulla modulazione di alcuni recettori nucleari (ER α , ER β , AR, AhR e PPAR γ) nonché sui livelli di selezionati marcatori funzionali, in seguito ad esposizione alle sostanze modello e alle matrici alimentari.

Nel complesso, i risultati indicano che a) le due linee cellulari utilizzate hanno permesso di evidenziare modulazioni qualitativamente e quantitativamente diverse dei recettori nucleari studiati, suggerendo quindi l'esistenza di suscettibilità diverse nei due organi bersaglio; b) l'entità della modulazione osservata per le matrici per l'infanzia e le sostanze modello risulta comparabile nonostante il pattern di modulazione recettoriale o dei marcatori funzionali sia diverso.

UN ESEMPIO DI MESSA A PUNTO DI UN TEST ALTERNATIVO IN TOSSICOLOGIA RIPRODUTTIVA NELL'ERA REACH: UN APPROCCIO IN VITRO PER IDENTIFICARE SOSTANZE CHIMICHE CON UN EFFETTO PROSTATA-MEDIATO

S. Lorenzetti, L. Narciso, D. Marcocchia, A. Mantovani

Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Rome (Italy)

La regolamentazione europea in tema di legislazione sulla registrazione, valutazione, autorizzazione e restrizione nella commercializzazione delle sostanze chimiche nell'Unione Europea (EU) è stata recentemente unificata all'interno del regolamento REACH (Regulation for Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals), entrato in vigore il 1 giugno 2007. REACH affida all'industria le responsabilità principali della gestione del rischio causato dalle sostanze chimiche alla salute umana e all'ambiente. In linea di principio, il sistema REACH si applica a tutte le sostanze chimiche e ha come obiettivi principali:

1. Migliorare la protezione della salute umana e dell'ambiente dai rischi posti dalle sostanze chimiche;
2. Aumentare la competitività dell'industria chimica, settore chiave dell'economia nell'EU;
3. **Promuovere metodi alternativi per la valutazione del rischio delle sostanze chimiche;**
4. Assicurare la libera circolazione delle sostanze chimiche nel mercato interno della EU.

Al fine di contribuire all'**obiettivo 3.** del REACH, il nostro gruppo di ricerca ha focalizzato la propria attenzione su un bersaglio tossicologico non particolarmente studiato in termini di tossicità riproduttiva sebbene largamente studiato nel settore oncologico. Tale bersaglio tossicologico è costituito dalla principale ghiandola del sistema riproduttivo maschile, la prostata, la cui funzione è essenziale per il mantenimento della fertilità maschile. Nell'ambito del progetto europeo ReProTect (RPT), la linea cellulare di epitelio prostatico umano LNCaP è stata utilizzata come sistema modello per studiare sostanze chimiche capaci di alterarne la funzionalità mediante un approccio integrato costituito da due differenti *endpoints* tossicologici: la vitalità cellulare e la secrezione della PSA. Entrambi sono stati valutati mediante l'utilizzo di test commerciali ampiamente diffusi.

La sperimentazione è stata condotta con un *RPT training set* di 5 sostanze chimiche a ben nota attività (anti)androgenica e un *RPT blinded feasibility set* di 10 sostanze chimiche al fine di accertare la predittività del modello stesso. I risultati ottenuti hanno mostrato che la maggior parte dei composti del *feasibility set* alteravano la secrezione della PSA solo a concentrazioni citotossiche. Come atteso, gli androgeni DHT e metiltestosterone/MT mostravano un incremento della secrezione della PSA così come l'erbicida glufosinato ammonio, finora non conosciuto come sostanza androgeno-simile. Anche gli anti-androgeni (2OH-flutamide, linuron, vinclozolina, di-*n*-butyl ftalato) hanno dimostrato di indurre un incremento della secrezione di PSA, ma con una potenza molto inferiore a quella degli androgeni. Infine il bisfenolo A, un plasticizzante noto come legante del recettore estrogeno, ha ridotto la secrezione della PSA contemporaneamente all'aumento della vitalità cellulare. Nell'insieme, l'approccio sperimentale utilizzato ha discriminato correttamente le sostanze chimiche con proprietà androgeno-simile e, soprattutto, senza falsi positivi (come giudicabile dai dati di tossicologia classica). Tale approccio, però, deve ancora essere esteso all'individuazione univoca di sostanze chimiche con proprietà anti-androgenica, quindi in presenza del ligando endogeno (nella prostata il DHT) del recettore androgeno/AR. Inoltre, l'impatto dell'utilizzo della linea cellulare LNCaP deve essere considerato nell'analizzare i risultati poiché possiede caratteristiche peculiari quali l'essere tumore-derivata e con un AR mutato.

Infine, il test della secrezione della PSA potrebbe costituire un elemento essenziale nella tossicità riproduttiva maschile insieme ad altri *cell-based assays* che analizzano la funzionalità delle cellule di Sertoli e del Leydig e ai test che misurano la capacità di legame e/o di transattivazione del recettore androgeno/AR.

Referenze. Lorenzetti S, Marcocchia D, Narciso L, Mantovani A. 2010. Cell viability and PSA secretion assays in LNCaP cells: A tiered *in vitro* approach to screen chemicals with a prostate-mediated effect on male reproduction within the ReProTect project. *Reprod. Toxicol.*, 30(1):25-25.

Ringraziamenti. Il lavoro presentato è stato finanziato dal progetto EU ReProTect (6FP) e condotto nell'ambito dei progetti ReProTect e del progetto nazionale "Pesci" (fascicolo Q34).

METODO DI INDAGINE FORENSE (DNA BARCODING) PER L'INVESTIGAZIONE DI FRODI ALIMENTARI: APPLICAZIONE AL SETTORE ITTICO

Maurizio Penserini, Francesco Nonnis Marzano*

Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università degli Studi di Parma, Via G.P. Usberti, 11/A – I – 43100 Parma – Italy.

**E-mail dell'Autore per la corrispondenza: maurizio.penserini@alice.it*

L'utilizzo di metodologie forensi nell'ambito delle frodi alimentari trova importanti applicazioni nel settore ittico. In particolare, la commercializzazione dei prodotti ittici non consente per molte specie una corretta identificazione morfologica, in quanto spesso vengono trasformati direttamente in loco al momento del prelievo. Esiste quindi il serio rischio che molte specie ittiche commercializzate sul mercato italiano non corrispondano alla reale etichettatura del prodotto, specie di basso valore economico siano vendute per specie più pregiate, e a volte queste false varietà siano forme appartenenti a specie protette a rischio di estinzione. Oltre agli aspetti economici, molte truffe rivestono importanza per quanto concerne la salute alimentare. Infatti le sostituzioni di specie possono risultare particolarmente deleterie nelle intolleranze alimentari, allergie e in alcuni tipi di diete. A ciò si aggiungono anche le problematiche inerenti alle specie di provenienza da paesi in via di sviluppo che non rispettano norme igienico-sanitarie controllate. Questi pesci possono essere così veicolo di importanti agenti patogeni o di metalli pesanti, bioaccumulati nelle carni di questi animali. L'obiettivo di questa ricerca è verificare l'applicabilità di metodologie forensi basate su marcatori molecolari del DNA, in particolare il sequenziamento diretto del gene mitocondriale citocromo c ossidasi COI, (Hebert et al., 2003; Ivanova et al., 2007), per il reale inquadramento tassonomico, indipendente dall'etichettatura riportata. Come metro di comparazione della tecnica è stato sequenziato anche il gene mitocondriale citocromo b (mtDNA Cyt b). Entrambi i marcatori vengono riferiti ad una metodologia d'indagine definita DNA BARCODING. La disponibilità di sequenze di COI e Cyt b già depositate nelle banche dati genomiche per la maggior parte delle specie di pesci commerciali consente l'identificazione di sequenze incognite sulla base di comparazioni/omologie effettuate utilizzando i pacchetti bioinformatici BLAST, FASTA e BOLD. Mediante applicazione del DNA Barcoding, è stato possibile verificare l'etichettatura di 69 prodotti ittici appartenenti ad almeno 27 specie diverse. Sono state prese in esame due principali aree di indagine localizzate nel bacino padano (province di Parma e Reggio Emilia) e tirrenico (province di Massa e La Spezia). Ben il 32% dei prodotti investigati è risultato appartenere ad una specie differente e di valore commerciale decisamente inferiore rispetto a quella originariamente dichiarata. L'analisi dei campioni ha individuato oltre ad una importante incongruenza delle forme dichiarate, specie presenti nella lista rossa IUCN a rischio di estinzione. Infatti queste indagini vengono anche impiegate nelle investigazioni forensi riferite all'ambiente naturale e alle specie selvatiche (WCI - Wildlife Crime Investigation). Nel presente studio è stato anche valutato lo stato di conservazione dei prodotti ittici rilevabile dalla qualità del DNA genomico estratto. Il corretto mantenimento della catena del freddo attraverso le diverse fasi della filiera (dalla pesca alla lavorazione, al trasporto, sino alla fase di commercializzazione) è stato verificato mediante analisi dello stato qualitativo del genoma. I campioni biologici infatti, non adeguatamente conservati mediante refrigerazione, congelamento o fissaggio con opportune sostanze conservanti, sono soggetti alla degradazione organica. In tale processo definito diagenesi si attivano particolari enzimi (nucleasi) responsabili della digestione degli acidi nucleici, con conseguente frammentazione del DNA. L'analisi visiva su transilluminatore a raggi UV dell'elettroforesi su gel d'agarosio del DNA genomico estratto e purificato ha consentito di valutarne lo stato qualitativo e il rispetto delle norme di conservazione. La realizzazione di una scala temporale di degradazione del materiale genetico ottenuta da diversi esperimenti di simulazione delle condizioni di conservazione dei prodotti ittici ha permesso di identificare una possibile datazione dei campioni investigati. In particolare il 45% dei campioni analizzati è risultato in evidente stato di degradazione, dovuto probabilmente ad un inadeguato mantenimento del prodotto.