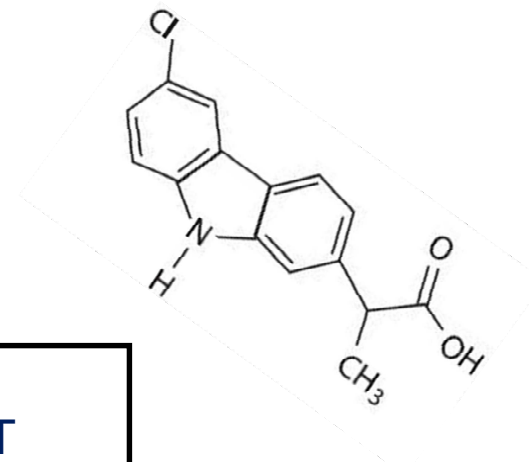
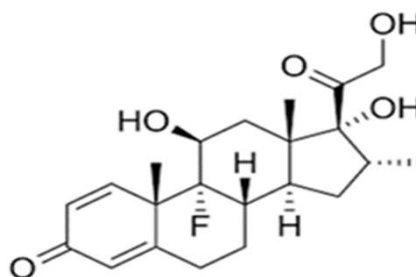
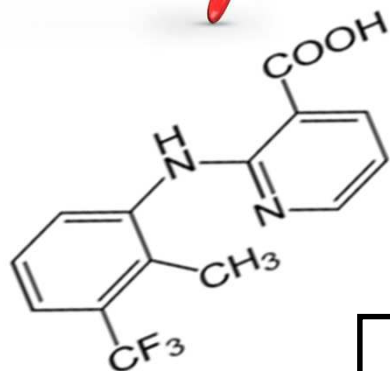




ALLA RICERCA DI ANTINFIAMMATORI EMERGENTI: APPLICAZIONE DELLA SPETTROMETRIA DI MASSA NELL'ANALISI DI ALIMENTI, MANGIMI E FLUIDI BIOLOGICI



Valentina Gallo

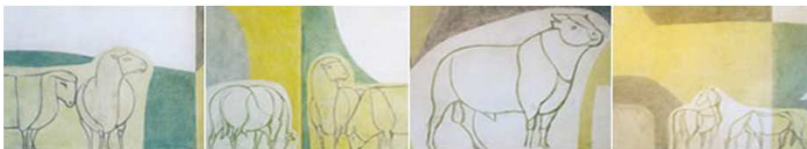
Direzione Operativa Chimica – IZSLT
17 ottobre 2017



Argomenti che verranno trattati



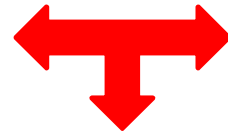
- Ains e Cortisonici: concetti generali e normativa di riferimento
- Metodi di analisi
- Positività riscontrate negli ultimi anni
- Lo scandalo della carne di cavallo



AINS

Farmaci antiinfiammatori non steroidei, gruppo eterogeneo di sostanze che agiscono bloccando l'azione delle prostaglandine attraverso l'inibizione delle ciclossigenasi

Azione antipiretica



Azione analgesica

Azione antiinfiammatoria



IMPIEGO TERAPEUTICO



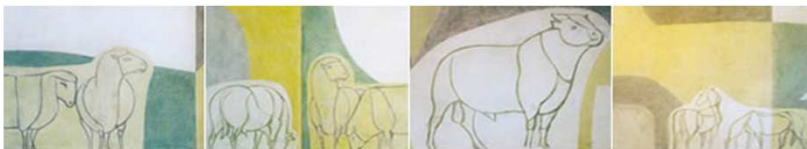
MALATTIE INFIAMMATORIE



PROCESSI INFETTIVI



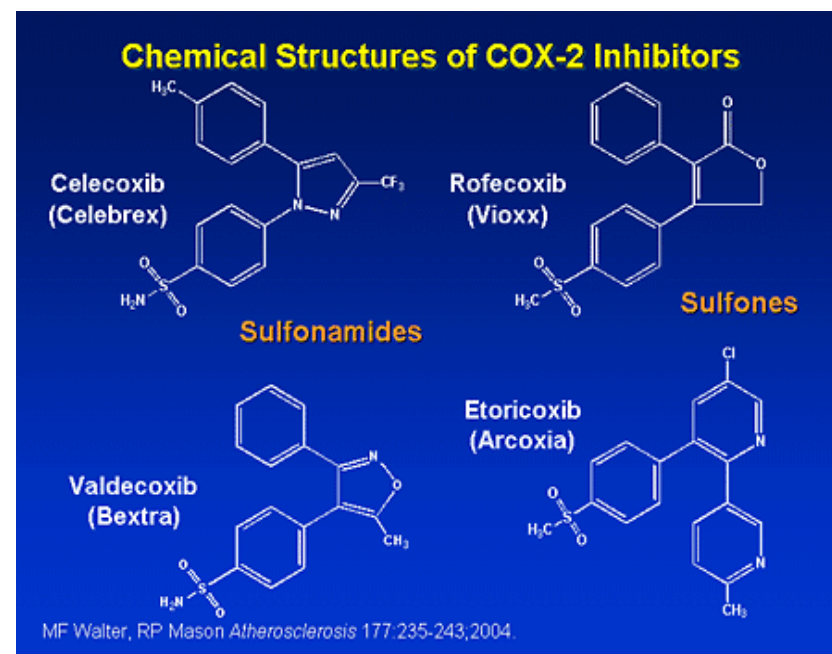
MALATTIE DEGENERATIVE



NEW

AINS di nuova generazione

Gli inibitori selettivi della COX-2, detti anche **coxib**, hanno un'efficacia pari a quella degli AINS tradizionali, in quanto bloccano l'attività della COX-2 e la sintesi di mediatori di infiammazione e dolore, e una tossicità decisamente inferiore perché non inibiscono la COX-1 e la produzione di sostanze gastroprotettive.

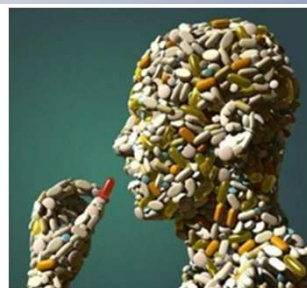


Minori effetti collaterali a carico del sistema gastroenterico



- Meloxicam (Metacam®)
- Carprofene (Rymadil®)
- Eltenac (Telzenac®)
- Diclofenac (Reuflogin®)
- Ketoprofene (Findol®, Vet-ketofen®)
- Fenilbutazone (Bute®, Afibutazone®)
- Vedaprofene (Quadrisol®)
- Flunixin (Finadyne®, Flogend®, Flunixin®, Meflosyl®, Niglumine®)
- Ac. tolfenamico (Tolfedine®)
- Lisina acetilsalicilato (Lysal®)
- Piroxicam (Flogostil®)
- Tepoxalin (Zubrin®)

Medicina veterinaria



Medicina umana

- Acido acetilsalicilico (Aspirina®, Aspro®, Aspirinetta®, Bufferin®, Cardioaspirin®, Cemirit®, ecc.)
- Nimesulide (Antalgo®, Aulin®, Biosal®, Mesulid®, Sulidamor®, ecc.)
- Piroxicam (Feldene®, Oxicam®, Reumagil®, ecc.)
- Ibuprofene (Algofen®, Brufen®, Antalgit®, Cibalgina due fast®, Momendol®, Synflex®, ecc.)
- Diclofenac (Voltaren®, Novapirina®, Fenadol®, ecc.)
- Paracetamolo (Efferalgan®, Levadol®, Panadol®, Tachipirina®, ecc.)
- Rofecoxib (Arofexx®, Vioxx®)
- Celecoxib (Artilog®, Celebrex®, Solexa®)
- Acido meclofenamico (Lenidor®, Meclodol®)
- Fenilbutazone (Kadol®)
- Etodolac (Lodine®)
- Ketorolac (Lixidol®, Tora-dol®, Acular®)



Principali applicazioni terapeutiche e posologia di alcuni FANS utilizzati in medicina veterinaria

Principio attivo	Indicazione terapeutica	Specie di destinazione	Posologia
Fenilbutazone	Terapia sintomatica delle affezioni a carattere algico-flogistico dell'apparato muscolo-scheletrico	Cavallo Cane	4,4-8 mg/kg PO ogni 24h o 3-6 mg/kg EV ogni 12h 14 mg/kg PO tid
Flunixin meglumina	Stati infiammatori legati a patologie muscolo-scheletriche. Dolori viscerali	Cavallo Cane Bovini Suini	1,1 mg/kg EV o IM ogni 24h per non più di 5 gg 1 mg/kg PO ogni 24h per non più di 3 gg 2,2 mg/kg EV ogni 24h per non più di 3 gg 2,2 mg/kg IM 1-2 volte a distanza di 12h
Ketoprofene	Trattamento stati infiammatori di qualunque origine Stati dolorosi post-chirurgici	Cane Gatto Cavallo Suini Bovini	1 mg/kg/die PO per 3-5 gg 2 mg/kg/die IM, EV, SC per 1-3 gg 1 mg/kg/die PO per 3-5 gg 2 mg/kg/die SC per 1-3 gg 2,2 mg/kg/die IM, EV per 3-5 gg 3 mg/kg/die IM per 3-5 gg 3 mg/kg/die IM, EV per 3-5 gg
Carprofen	Trattamento dell'infiammazione e del dolore delle patologie acute e croniche dell'apparato muscolo-scheletrico	Cane	2-4 mg/kg/die PO suddivise in 2 somministrazioni per 14 gg 4 mg/kg SC o EV
Vedaprofen	Controllo dei processi infiammatori e del dolore associato ad affezioni acute e croniche dell'apparato muscolo-scheletrico e traumi	Cane	0,5 mg/kg/die PO per una durata massima di 28 gg
Meloxicam	Trattamento dell'infiammazione e del dolore di forme acute e croniche dell'apparato muscolo-scheletrico	Cane Bovino	0,2 mg/kg SC, EV 0,2 mg/kg il primo gg, poi 0,1 mg/kg/die PO per 10 gg 0,5 mg/kg SC o EV
Diclofenac	Terapia antinfiammatoria, analgesica e antipiretica in particolare forme a sfondo traumatico e/o reumatico	Bovini, Equini, Suini	2,5 mg/kg/die IM, EV per non più di 3-5 gg





Impiego negli animali allevati a scopi produttivi

problema della presenza di residui negli alimenti

LMR



Impiego nei cavalli da corsa

Impiego terapeutico o doping?



▼B

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 e che abroga le direttive 85/358/CEE e 86/469/CEE e le decisioni 89/187/CEE e 91/664/CEE

ALLEGATO I

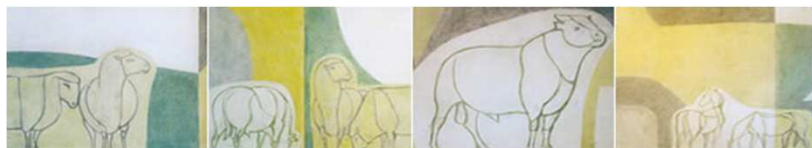
CATEGORIA A — Sostanze a effetto anabolizzante e sostanze non autorizzate

- 1) Stilbeni, loro derivati e loro sali e esteri
- 2) Agenti antitiroidei
- 3) Steroidi
- 4) Lattoni dell'acido resorcilico (compreso lo zeranolo)
- 5) β -agonisti
- 6) Sostanze incluse nell'allegato IV del regolamento (CEE) n. 2377/90 del Consiglio, del 26 giugno 1990

CATEGORIA B — Medicinali veterinari ⁽¹⁾ e agenti contaminanti

- 1) Sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici, chinoloni
- 2) Altri prodotti medicinali veterinari
 - a) Antelmintici
 - b) Cocci diostatici, compresi i nitroimidazoli
 - c) Carbammati e piretroidi
 - d) Tranquillanti
 - e) Antinfiammatori non steroidei (AINS)
 - f) Altre sostanze esercitanti un'attività farmacologica
- 3) Altre sostanze e agenti contaminanti per l'ambiente
 - a) Composti organoclorurati, compresi i PCB
 - b) Composti organofosforati
 - c) Elementi chimici
 - d) Micotossine
 - e) Coloranti
 - f) Altri

Categoria B2e AINS



REGOLAMENTO (CE) N. 470/2009 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO

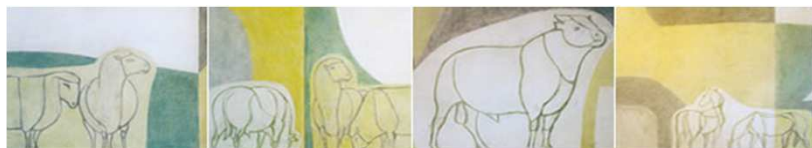
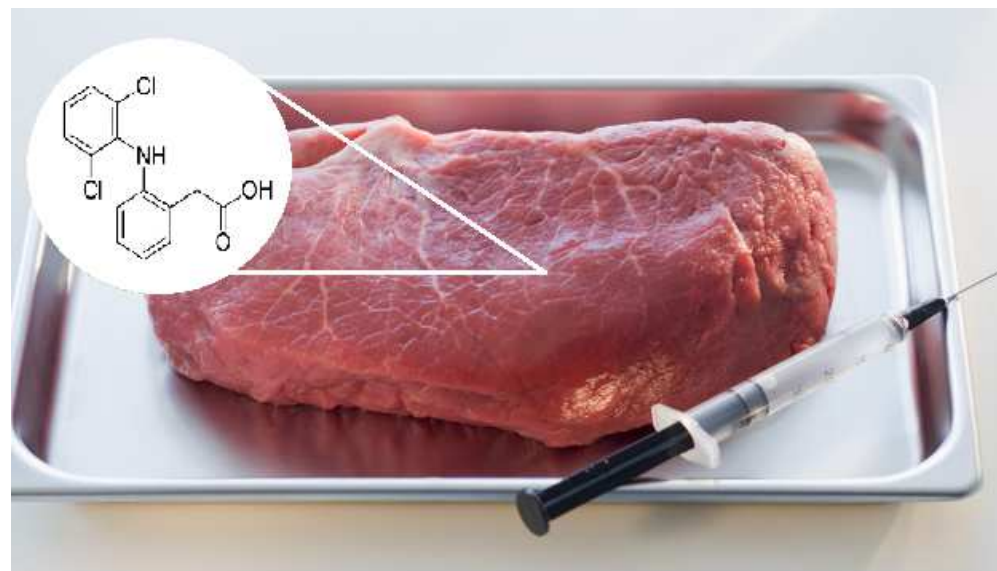
del 6 maggio 2009

che stabilisce procedure comunitarie per la determinazione di limiti di residui di sostanze farmacologicamente attive negli alimenti di origine animale, abroga il regolamento (CEE) n. 2377/90 del Consiglio e modifica la direttiva 2001/82/CE del Parlamento europeo e del Consiglio e il regolamento (CE) n. 726/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio

(Testo rilevante ai fini del SEE)

LMR

la concentrazione massima del residuo di una sostanza farmacologicamente attiva che può essere autorizzata negli alimenti di origine animale («limite massimo di residui»)



REGOLAMENTO (UE) N. 37/2010 DELLA COMMISSIONE

del 22 dicembre 2009

concernente le sostanze farmacologicamente attive e la loro classificazione per quanto riguarda i limiti massimi di residui negli alimenti di origine animale

(Testo rilevante ai fini del SEE)

L 15/26 IT Gazzetta ufficiale dell'Unione europea 20.1.2010

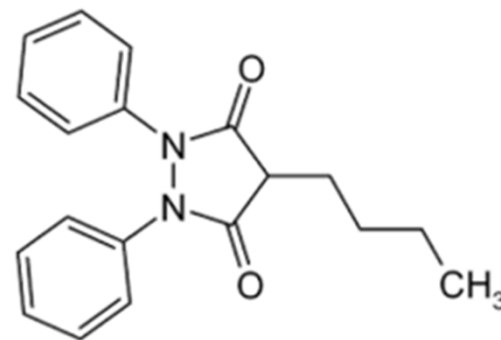
Sostanze farmacologicamente attive	Residuo marcatore	Specie animale	LMR	Tessuti campione	Altre disposizioni (conformemente all'articolo 14, paragrafo 7, del regolamento (CE) n. 470/2009)	Classificazione terapeutica
Diclofenac	Diclofenac	Bovini	5 µg/kg 1 µg/kg 5 µg/kg 10 µg/kg 0,1 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene Latte	Per i suini l'LMR del grasso si riferisce a «pelle e grasso in porzioni naturali»	Agenti antinfiammatori/Agenti antinfiammatori non steroidei
		Suini	5 µg/kg 1 µg/kg 5 µg/kg 10 µg/kg	Muscolo Pelle e grasso Fegato Rene		
Ketoprofene	NON PERTINENTE	Bovini, suini, equidi	LMR non richiesto	NON PERTINENTE	NESSUNA	NESSUNA





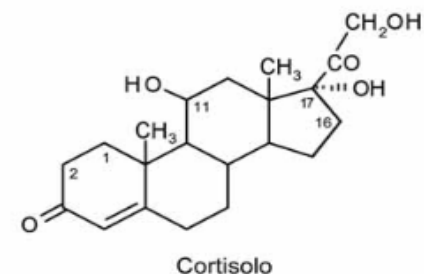
Fenilbutazone

Dal 1997 non è consentito l'utilizzo di fenilbutazone per il trattamento di animali destinati alla filiera alimentare





Cortisonici



Sostanze farmacologicamente attive di sintesi a struttura steroidea di largo impiego in medicina veterinaria come **antinfiammatori** ed **immunosoppressori**.

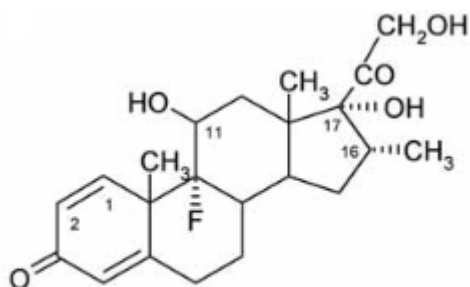
Derivano dal cortisolo:
modificazioni della struttura
chimica → maggiore attività
antiinfiammatoria associata ad
un minor effetto sodio-ritentivo

Corticosteroidi naturali: ormoni steroidei
secreti dalle ghiandole surrenali e coinvolti in
diversi processi fisiologici (risposta allo
stress, infiammazione, funzione
immunitaria, bilancio idroelettrolitico ecc.)

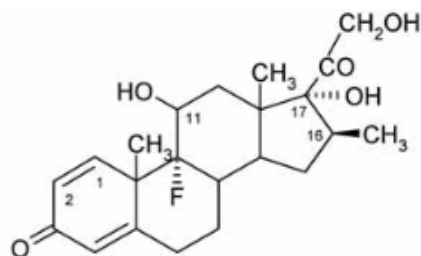


- **Desametasone**
- **Betametasone**

molecole più utilizzate nell'allevamento bovino per il trattamento di affezioni dell'apparato locomotore e di patologie metaboliche



Desametasone



Betametasone

Somministrazione: via parenterale, mediante incolo endovenoso (maggiore rapidità d'azione, indispensabile in caso di shock) o intramuscolare (azione prolungata dovuta al lento rilascio di alcuni esteri).

Rapido assorbimento.

Metabolizzati a livello epatico tramite reazioni di ossidazione e di coniugazione.

Eliminazione prevalentemente per via urinaria



Cortisonici

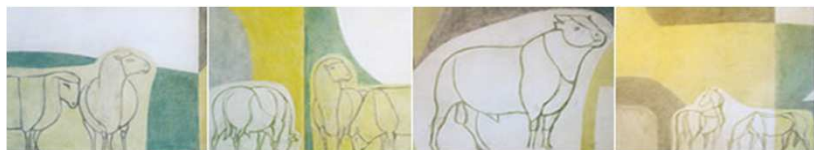
Uso illecito come promotori di crescita

- sia da soli, sia in associazione ad altri principi attivi non consentiti, quali estrogeni, androgeni e/o β -agonisti
- trattamenti prolungati a dosi sub-terapeutiche



EFFETTO DEI CORTISONICI

- ✓ accumulo di acqua nei tessuti
- ✓ aumento della massa magra
- ✓ stimolazione dell'appetito
- ✓ generale sensazione di benessere
- ✓ schiarimento delle le carni
- ✓ aumento della tenerezza delle carni

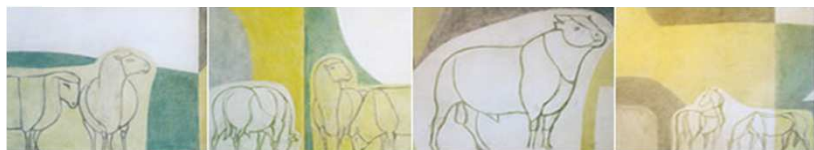


Classificazione dei cortisonici

Dal 2012 migrati dal gruppo A3 al gruppo B2f

L'impiego negli animali allevati a fini produttivi, è normato dalla Direttiva n. 97/2008/CE, che ne autorizza l'uso solo a scopo terapeutico, alle dosi registrate e con l'osservanza dei tempi di attesa prima della macellazione, al fine di rispettare i limiti massimi di residui (LMR), stabiliti nelle derrate alimentari di origine animale.

Desametasone	Desametasone	Bovini, caprini, suini, equidi	0,75 µg/kg 2 µg/kg 0,75 µg/kg	Muscolo Fegato Rene	NESSUNA	Corticoidi/Glucocorticoidi
		Bovini, caprini	0,3 µg/kg	Latte		
Betametasone	Betametasone	Bovini, suini	0,75 µg/kg 2,0 µg/kg 0,75 µg/kg	Muscolo Fegato Rene	NESSUNA	Corticoidi/Glucocorticoidi
		Bovini	0,3 µg/kg	Latte		





TRATTAMENTO ILLECITO: l'utilizzo di sostanze o prodotti non autorizzati, ovvero di sostanze o prodotti autorizzati a **fini o a condizioni diversi** da quelli previsti dalle vigenti disposizioni

- ▶ assenza di prescrizione;
- ▶ assenza di registrazione del trattamento;
- ▶ mancanza della registrazione del Veterinario responsabile sul registro di scorta dei medicinali veterinari in caso di trattamento;
- ▶ modalità di somministrazione diverse rispetto a quanto previsto

Spesso impiegati ad alte dosi in animali a fine carriera **per mascherare stati patologici alla visita ante-mortem**



Biennio 2008-2009

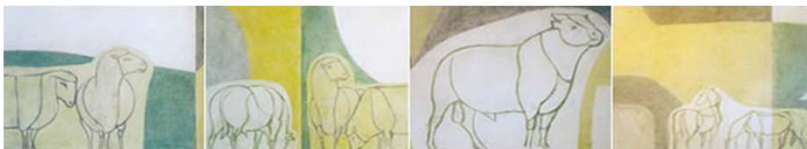


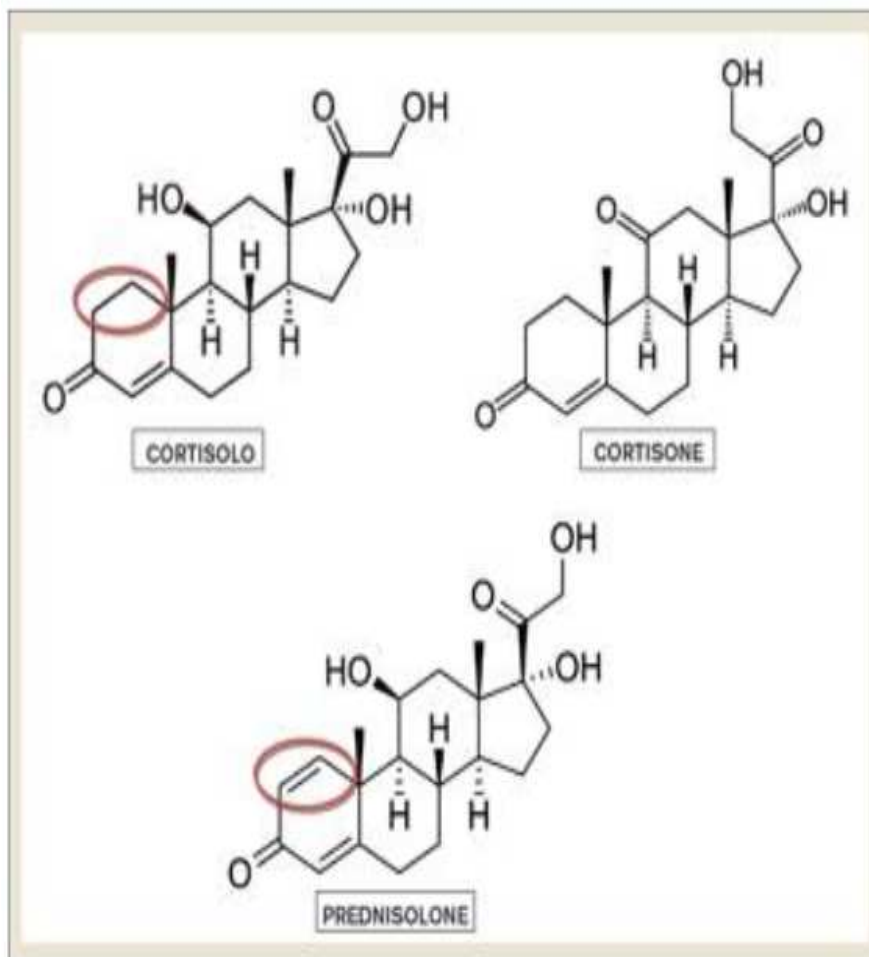
Piano di controllo straordinario teso a monitorare l'uso dei corticosteroidi nelle vacche attraverso il prelievo di urine in allevamento e al macello.

Incidenza di positività anomala per il prednisolone (72%).

La successiva ispezione veterinaria non rilevò l'uso terapeutico di questa molecola

Prednisolone nelle urine: molecola endogena o residuo di trattamento illecito?





● Figura 1 - Struttura chimica di cortisolo, cortisone e prednisolone. La struttura del prednisolone differisce da quella del cortisolo per la presenza di un doppio legame C1-2.

22 maggio 2012 – Consiglio Superiore di Sanità ha stabilito nuovo limite di **5,0 µg/l**, al di sopra del quale emettere un giudizio di non conformità e ammettendo quindi la possibilità che questa molecola possa essere di **secrezione endogena**



Stress legato al trasporto e alla macellazione

- Valutazione cortisolo/prednisolone
- Ulteriori verifiche in allevamento
- Indagine su organi target (fegato)



COME AVVIENE IL CONTROLLO



- PIANI NAZIONALI DI CONTROLLO (PNR)
- PIANI REGIONALI DI CONTROLLO
- ALTRI PIANI DI MONITORAGGIO...



Controllo nell'ambito del PNR

Il Piano Nazionale per la ricerca di Residui (**PNR**) è un piano di sorveglianza del processo di allevamento degli animali e di prima trasformazione dei prodotti di origine animale



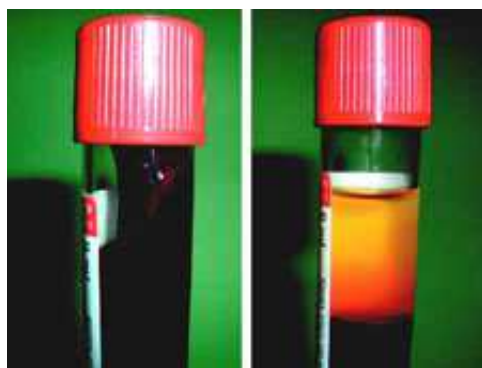


Scopo del PNR

- Svelare i casi di **somministrazione illecita di sostanze vietate** o di **somministrazione abusiva di sostanze autorizzate** ad attività farmacologica
- Verificare la conformità dei residui di medicinali veterinari e di contaminanti ambientali con i **Limiti Massimi Residuali** (LMR) o Limiti Massimi (LM) fissati dalla normativa comunitaria e nazionale



Matrici

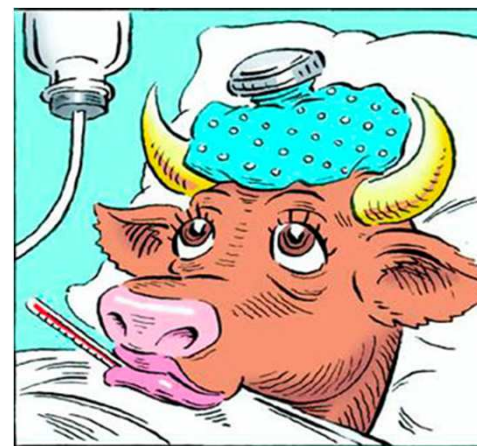


MACELLAZIONI D'URGENZA

**REGOLAMENTO (UE) N. 218/2014 DELLA COMMISSIONE
del 7 marzo 2014**

**che modifica gli allegati dei regolamenti (CE) n. 853/2004 e (CE) n. 854/2004
del Parlamento europeo e del Consiglio e il regolamento (CE) n. 2074/2005
della Commissione
(Testo rilevante ai fini del SEE)**

La macellazione di un animale che, a seguito di un incidente o del verificarsi di una turba metabolica-funzionale tali comunque da non rendere le carni inadatte al consumo umano, per considerazioni relative al suo benessere, venga condotta al di fuori di un macello



Nota del Ministero della Salute del 27 maggio 2014

Esami di Laboratorio

Singola aliquota per esame
batterologico

Porzioni di muscolo per inibenti
conformemente a quanto
previsto nel PNR



Prelievo per ricerca di sostanze
farmacologicamente attive →
**campione su sospetto –
clinico-anamnestico**

3. Controlli di laboratorio sulle carni e loro destino in base all'esito

In caso di esiti favorevole della visita post mortem il veterinario ufficiale procede al prelievo sistematico, in singola aliquota, di un campione di muscolo per l'esame batteriologico e la ricerca di sostanze inibenti e di fegato per l'esame batteriologico.

Il prelievo di porzioni di muscolo al fine della conduzione degli esami batteriologici e per la ricerca di sostanze inibenti rientra tra gli accertamenti necessari al fine dell'emanazione del giudizio di idoneità delle carni al consumo, pertanto alle carni non potranno essere applicati i bolli sanitari prima della conclusione, con esito favorevole, dei diversi esami tra cui quelli di laboratorio.

Nel caso in cui l'esame per la ricerca delle sostanze inibenti dia esito sfavorevole il veterinario ufficiale provvede a un nuovo prelievo di muscolo per la ricerca di residui di sostanze farmacologicamente attive indicando sul verbale di prelievo che trattasi di un campione su sospetto (tipologia di campionamento: clinico-anamnestico), e procedendo al sequestro della carcassa. Le spese di queste ultime analisi sono a carico dell'OSA conformemente a quanto già previsto nel PNR.

In caso di riscontro di non conformità devono essere condotti gli accertamenti e adottati i provvedimenti previsti dal Piano Nazionale Residui.

Pertanto per le carni di animali macellati d'urgenza, dichiarate idonee al consumo umano, non sussiste più né l'obbligo di uno speciale bollo sanitario né la restrizione alla commercializzazione in ambito nazionale. L'articolo 4 del D.l.vo 6 novembre 2007, n. 193 è di conseguenza disapplicato.



Con riferimento alla Determinazione 27 agosto 2014, n. G12150 "Macellazione d'urgenza - Aggiornamento Procedure Operative." (BURL n. 71 del 04/09/2014) si precisa quanto segue :

Nel paragrafo "**controlli al macello**", il Veterinario Ufficiale del macello procede al prelievo dei campioni per accertamenti analitici atti a valutare la presenza di eventuali contaminazioni batteriche nelle masse muscolari profonde a seguito di batteriemie pre o post iugulazione e/o la presenza di residui di sostanze ad azione inibente o antinfiammatori steroidei e non (cortisonici e AINS).

Con nota regionale prot. 517791 del 19.09.14 sono state fornite alcune precisazioni in merito al campionamento ufficiale in 5 aliquote da eseguirsi al macello per la **ricerca di residui**, conformemente alle procedure del PNR (campione su sospetto, tipologia clinico anamnestico) e specificatamente:

ricerca antibiotici : **muscolo**
ricerca antiinfiammatori non steroidei (AINS) : **muscolo**
ricerca cortisonici : **FEGATO**



REGIONE LAZIO



METODO ANALITICO

COMMISSIONE

DECISIONE DELLA COMMISSIONE

del 12 agosto 2002

che attua la direttiva 96/23/CE del Consiglio relativa al rendimento dei metodi analitici
all'interpretazione dei risultati

[notificata con il numero C(2002) 3044]

(Testo rilevante ai fini del SEE)

(2002/657/CE)



Tabella 1

Metodi di conferma adeguati per residui o contaminanti organici

Necessario identificare in maniera univoca le sostanze ed eventualmente quantificarle al livello di interesse



LC-MS/MS e LC-HRMS



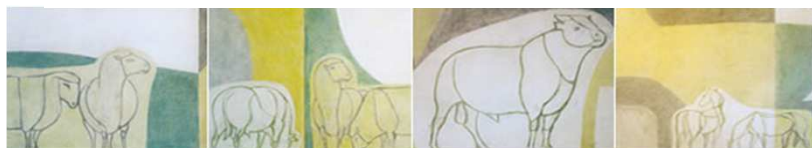
	ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLA TOSCANA M. ALEANDRI DIREZIONE OPERATIVA CHIMICA
<p>POS CHI 061 INT REV. 5 DEL 29/05/2017</p> <p>ANTINFIAMMATORI NON STEROIDEI: KETOPROFENE, OSSIFENBUTAZONE, MELOSSICAM, CARPROFENE, IBUPROFENE, ACIDO MEFENAMICO, VEDAPROFENE, NAPROSSENE, FLUNIXIN, DICLOFENAC, FENILBUTAZONE, ACIDO NIFLUNICO, ACIDO TOLFENAMICO (LC-MS/MS) pag.1 di 12</p>	

DIREZIONE OPERATIVA CHIMICA

pag 1 di 9

POS CHI 025 INT rev. 4 del 10/04/2013

CORTISONICI: BECLOMETASONE, BETAMETASONE, DESAMETASONE, FLUMETASONE, METILPREDNISOLONE, PREDNISOLONE, PREDNISONE, TRIAMCINOLONE, TRIAMCINOLONE ACETONIDE (LC-MS/MS)



Procedura analitica



Omogeneizzazione e pesata del campione (campione da analizzare, controllo positivo, controllo negativo)

Per la ricerca di cortisonici segue una fase di idrolisi enzimatica



Estrazione con solvente organico

Purificazione mediante SPE
lavaggio con esano

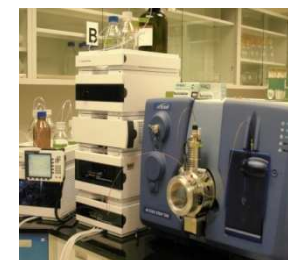


Evaporazione
sotto N₂



LC-MS/MS

LC-HRMS



CORTISONICI

Condizioni Spettrometro di massa :

Ionizzazione: ioni negativi

DP: -70 V

Temperatura: 380 °C

Flusso N2: 60

Flusso Aria: 60

Analita	Ione precursore (m/z)	Ione figlio(m/z)	Energia di collisione (eV)	Dwell Time ms
Flumetasone	379	305	30	50
		325	25	50
Desametasone	361	307	30	50
		325	25	50
Betametasone	361	307	30	50
		325	25	50
Prednisolone	329	280	30	50
		295	25	50
Triamcinolone	345	310	30	50
		325	28	50
Triamcinolone acetonide	493	413	25	50
		375	20	50
Beclometasone	467	377	15	50
		297	30	50
Prednisone	327	285	25	50
		149	40	50
MetilPrednisolone	343	309	25	50
		294	28	50
Fludrocortisone	349	295	30	50



AINS

<i>Triplo LC-MS</i>	<i>Q Exactive</i>
Condizioni Spettrometro di massa :	Condizioni Spettrometro di massa :
Ionizzazione: ESI negativi	Ionizzazione: ESI negativi
Voltaggio capillare: 4500V	Voltaggio capillare: 3000 V
Orifizio: 60V	S lens: 50V
Temperatura TIS: 550 °C	Capillary temperature: 300 °C
GS1: 45	Heater temperature: 320 °C
GS2: 50	

Analita	Triplo LC-MS			Q Exactive	
	Ione precursore (m/z)	Ione figlio(m/z)	Energia di collisione (eV)	Massa esatta	Frammento
Ketoprofene	253	209	- 9	253.0870	209.1
	254	210	-10		
Ossifenbutazone	323	295	- 20	323.1401	134.0
		134	- 30		
Meloxicam	350	286	- 20	350.0275	146.1
		146	- 45		
Carprofene	272	228	- 10	272.0484	228.1
		226	- 30		
Ibuprofene	205	161	- 9	205.1234	161.7
		159	- 9		
Acido Mefenamico	240	196	- 24	240.1030	196.17
		180	- 35		
Vedaprofene	281	237	- 15	237.1645	225.17
		235	- 25		
Naprossene	229	185	- 9	170.0728	169.1
		170	- 20		
Flunixin	295	251	- 20	295.0699	251.1
		191	- 42		
Diclofenac	294	250	- 15	294.0094	250.0
		252	- 15		
Fenilbutazone	307	279	- 25	307.1452	131.0
		131	- 30		
Acid Niflunico	281	237	- 20	281.0534	237.1
		177	- 45		
Acido Tolfenamico	260	216	- 20	260.0484	216.1
		180	- 25		
Flunixin D3	298	254	- 20	298.0888	254.1



Verifica della procedura analitica:



- ✓ controllo positivo $s/n \geq 3:1$
- ✓ **assenza di segnali interferenti** nel controllo negativo

Identificazione degli analiti: iniettare i campioni in esame e verificare la presenza di picchi cromatografici al tempo di ritenzione atteso degli analiti ricercati.

La presenza dell'analita è confermata quando:

- ✓ corrispondenza del t_r con **tolleranza massima $\pm 2,5\%$**
- ✓ $s/n \geq 3:1$ per ciascuno ione diagnostico (o transizione)
- ✓ corrispondenza delle **intensità ioniche relative** (espresse come percentuale del picco base) con una tolleranza massima

Tab.1 Tolleranze massime consentite per intensità di ioni relative	
Intensità relativa (% del picco di base)	LC-MS-MS (relativa)
> 50%	± 20
> 20 % – 50 %	± 25
> 10 % – 20 %	± 30
≤ 10 %	± 50

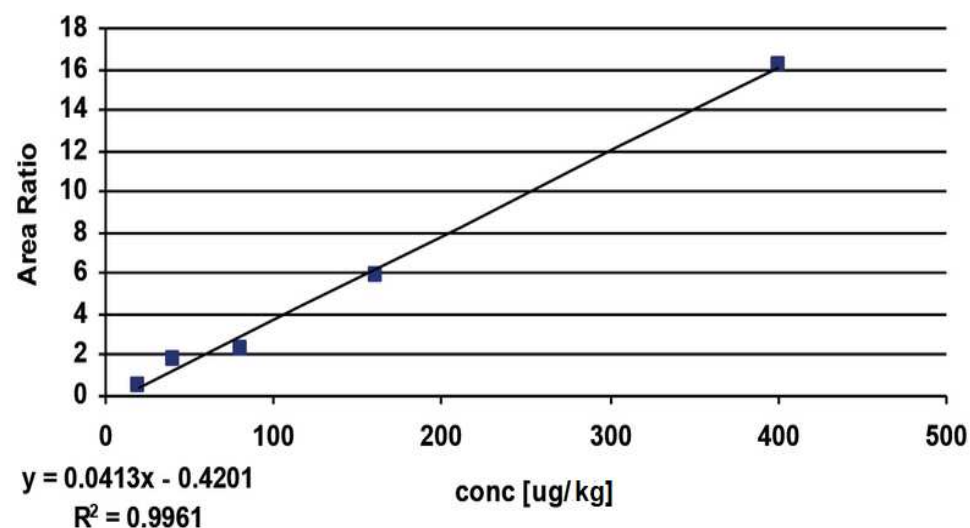


Analisi quantitativa

Concentrazioni di analita $> \text{LOD}$ → costruzione di una curva di taratura in matrice

Almeno 5 livelli (compreso lo zero) corrispondenti al LOD ed altri tre punti, preferibilmente 0.5 LMR, 1.0 LMR, 1.5 LMR.

La retta risulta valida quando il coefficiente di correlazione è > 0.990



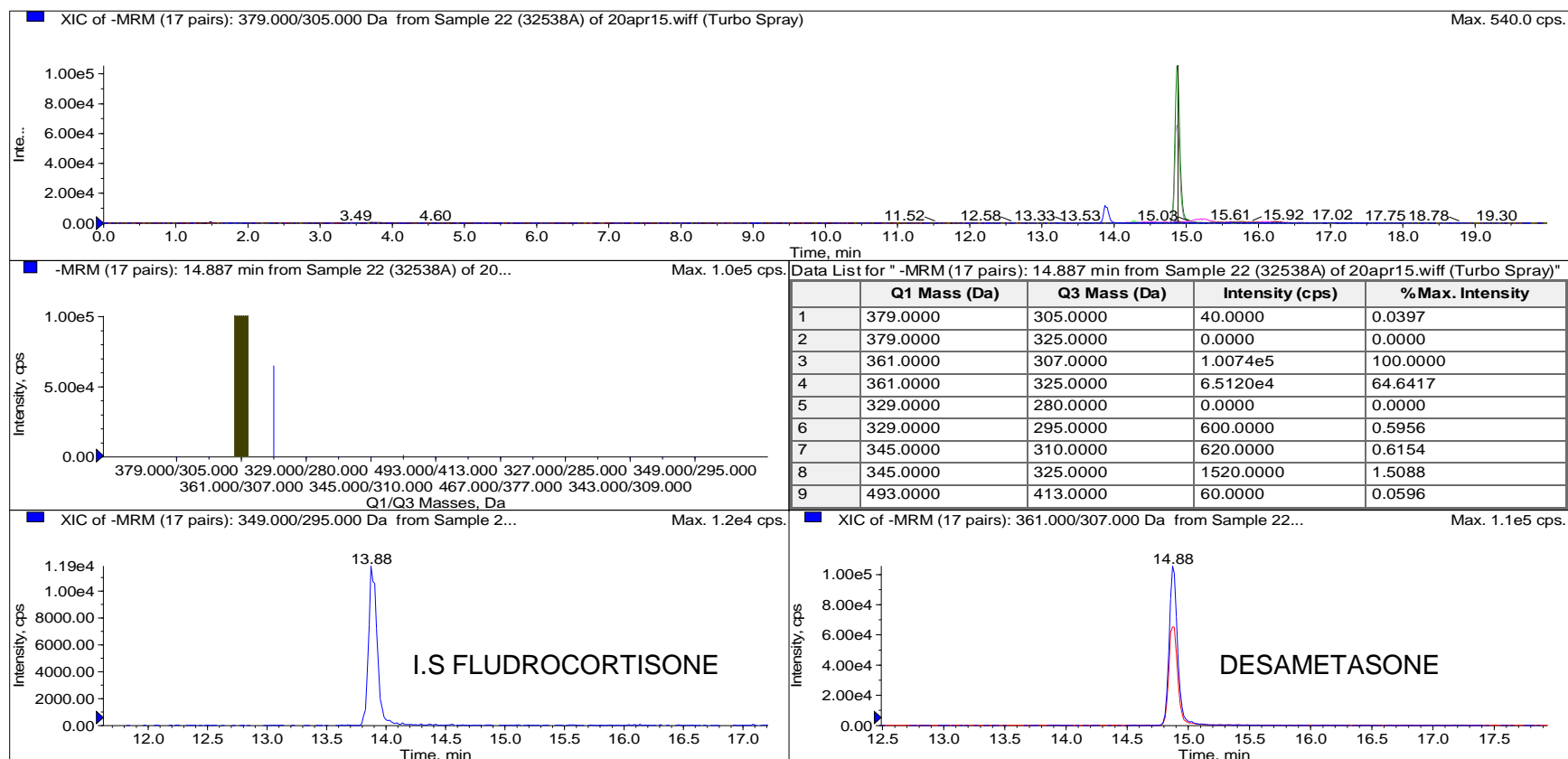


Positività riscontrate negli ultimi anni

Cortisonici	Campioni 2012	Campioni 2013	Campioni 2014	Campioni 2015	Campioni 2016	Campioni 2017 fino ad agosto
Tot	73	160	250	186	115	63
Non conformi	3	2	3	10	2	-
Ains	Campioni 2012	Campioni 2013	Campioni 2014	Campioni 2015	Campioni 2016	Campioni 2017 fino ad agosto
Tot	8	237	216	339	367	254
Non conformi	-	-	7	3	2	3

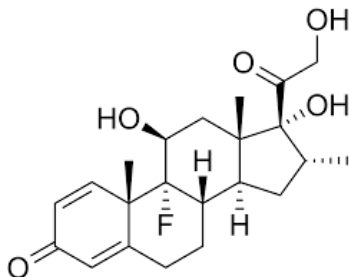


Campione Fegato Bovino positivo Desametasone

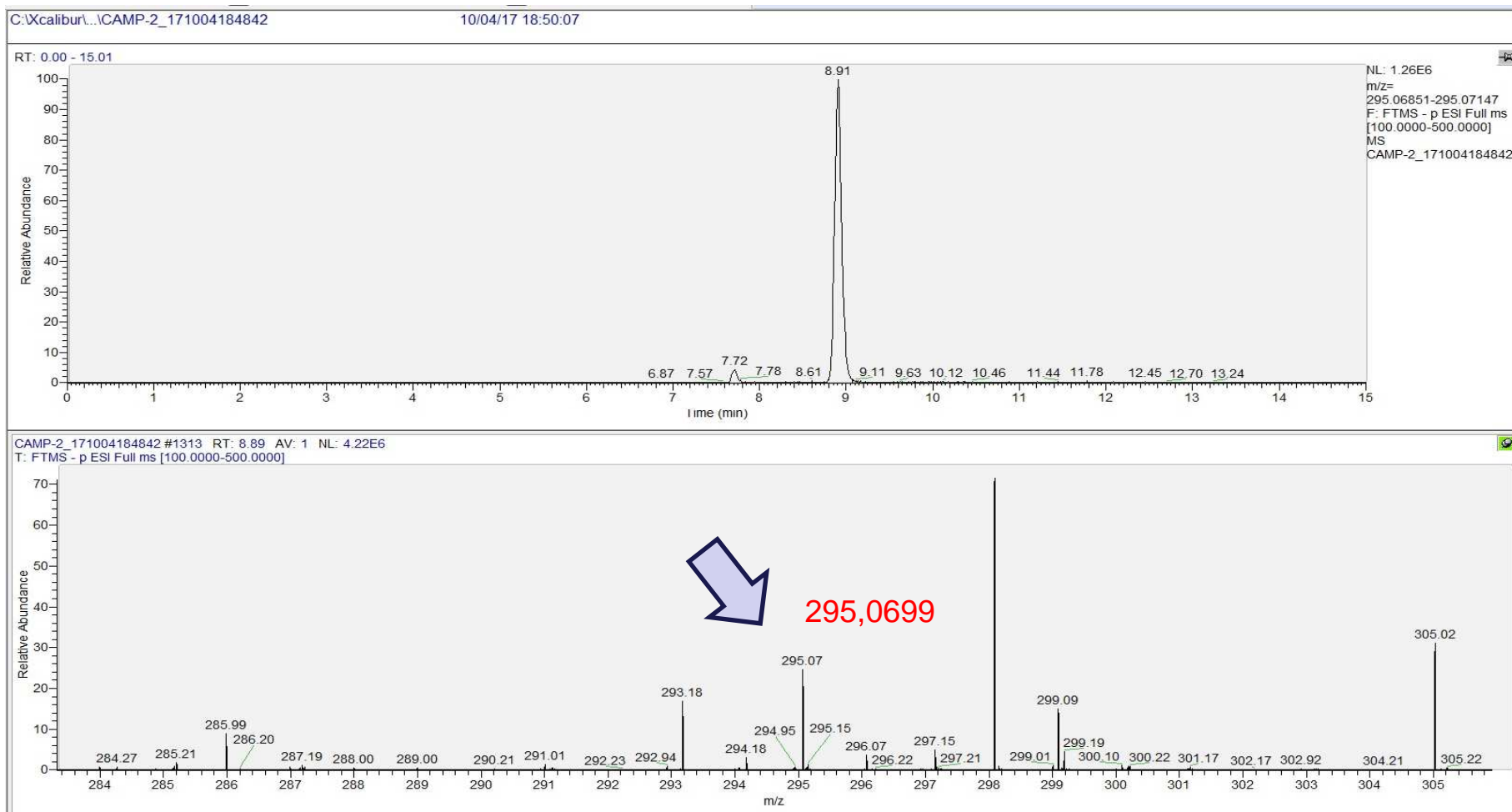


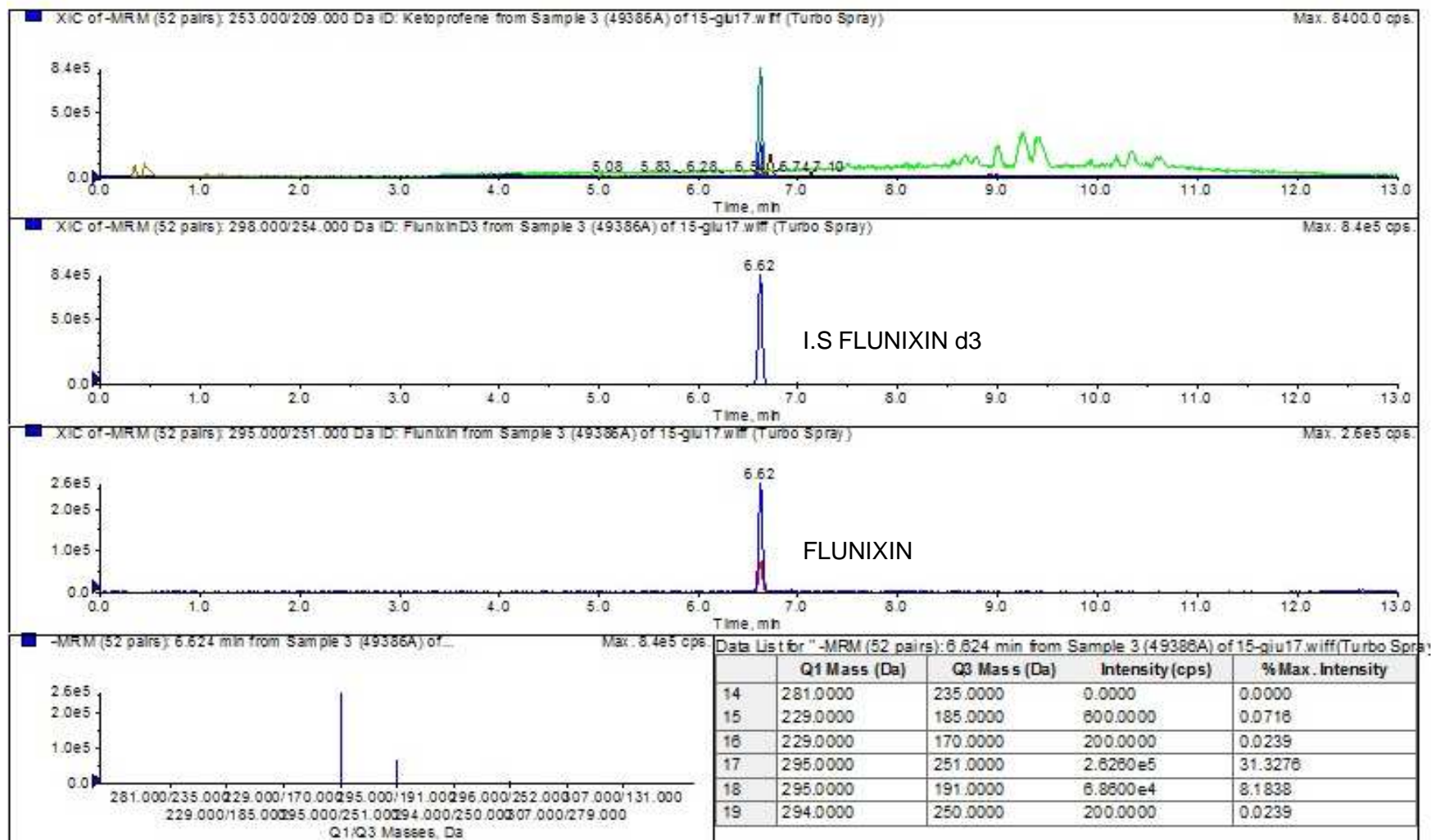
	Sample Name	Sample ID	Sample Type	File Name	Analyte Peak Area (counts)	Analyte Peak Height (cps)	Analyte Concentration (ng)	Standard Query	IS Peak Area (counts)	IS Peak Height (cps)	Use Record	Record Modified	Calculated Concentration	Accuracy (%)
1	std1.0ppb		Standard	10feb15.	1.83e+004	2.29e+003	1.00	N/A	9.83e+004	1.15e+004	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1.11	111.
2	std0.5ppb		Standard	10feb15.	1.13e+004	1.31e+003	0.500	N/A	9.58e+004	1.13e+004	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.671	134.
3	Met		Unknown	10feb15.	2.87e+002	1.01e+002	N/A	N/A	3.74e+001	4.00e+001		<input type="checkbox"/>	48.7	N/A
4	agg5ppb		Standard	20apr15.	4.51e+004	8.59e+003	5.00	N/A	6.01e+004	1.02e+004	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	4.69	93.9
5	agg2ppb		Standard	20apr15.	2.38e+004	5.38e+003	2.00	N/A	7.43e+004	9.40e+003	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1.95	97.7
6	agg15pp		Standard	20apr15.	2.26e+005	3.37e+004	15.0	N/A	9.52e+004	1.16e+004	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	15.1	100.
7	bianco		Unknown	20apr15.	3.37e+002	6.45e+001	N/A	N/A	1.63e+003	3.17e+004		<input checked="" type="checkbox"/>	< 0	N/A
8	32538A		Unknown	20apr15.	2.99e+005	6.26e+004	N/A	N/A	6.19e+004	1.21e+004		<input checked="" type="checkbox"/>	30.7	N/A
9	32538B		Unknown	20apr15.	3.04e+005	5.57e+004	N/A	N/A	6.54e+004	1.31e+004		<input checked="" type="checkbox"/>	29.5	N/A
10	AggDesa		Standard	20apr15.	7.11e+005	1.30e+005	30.0	N/A	1.50e+005	2.03e+004	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	30.0	100.

DESAMETASONE 30.1 µg/Kg
LMR 2 µg/kg



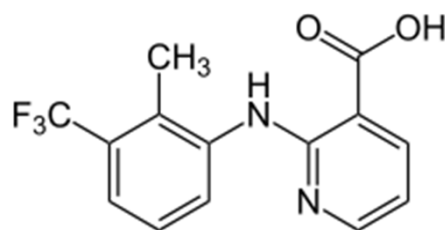
Campione Muscolo Bovino positivo Flunixin





	Sample Name	Sample	Sample Type	File Name	Analyte Peak Area (counts)	Analyte Peak Height (counts)	Analyte Concentration	Standard Query	IS Peak Area (counts)	IS Peak Height (counts)	Use Record	Record Modified	Calculated Concentration	Accuracy (%)
1	bianco-		Standard	15-giu17.wif	5.47e+003	1.99e+003	0.00	N/A	2.77e+006	6.23e+005			0.242	N/A
2	49386A		Unknown	15-giu17.wif	7.30e+005	2.58e+005	N/A	N/A	2.47e+006	7.99e+005			29.8	N/A
3	49386B		Unknown	15-giu17.wif	6.77e+005	2.42e+005	N/A	N/A	2.40e+006	8.27e+005			28.4	N/A
4	agg-20ppb		Standard	15-giu17.wif	5.00e+005	2.08e+005	20.0	N/A	2.00e+006	1.03e+006			19.7	98.7
5	Agg10ppb		Standard	15-giu17.wif	3.01e+005	9.98e+004	10.0	N/A	2.87e+006	9.32e+005			10.5	105.
6	Agg30ppb		Standard	15-giu17.wif	7.80e+005	3.04e+005	30.0	N/A	2.61e+006	8.71e+005			30.1	100.
7	Agg50ppb		Standard	15-giu17.wif	1.21e+006	4.86e+005	50.0	N/A	2.44e+006	8.27e+005			49.9	99.9

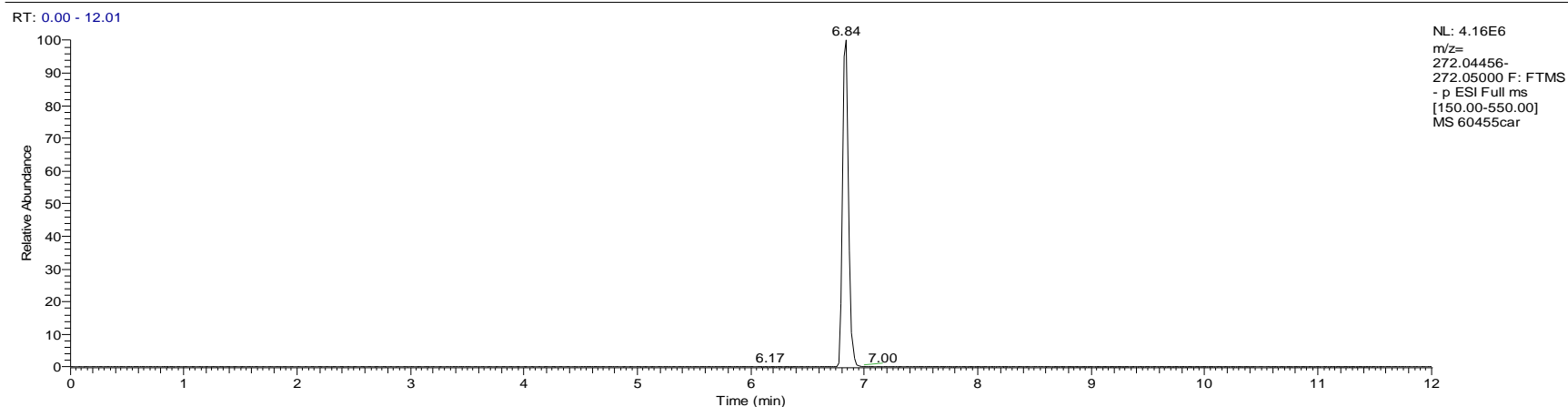
FLUNIXIN 29.1 µg/Kg
LMR 20 µg/kg



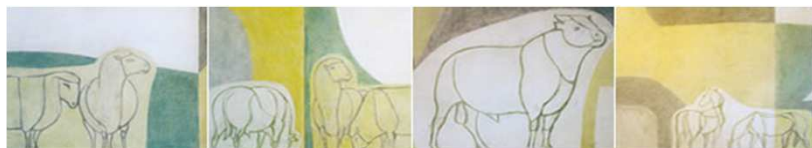
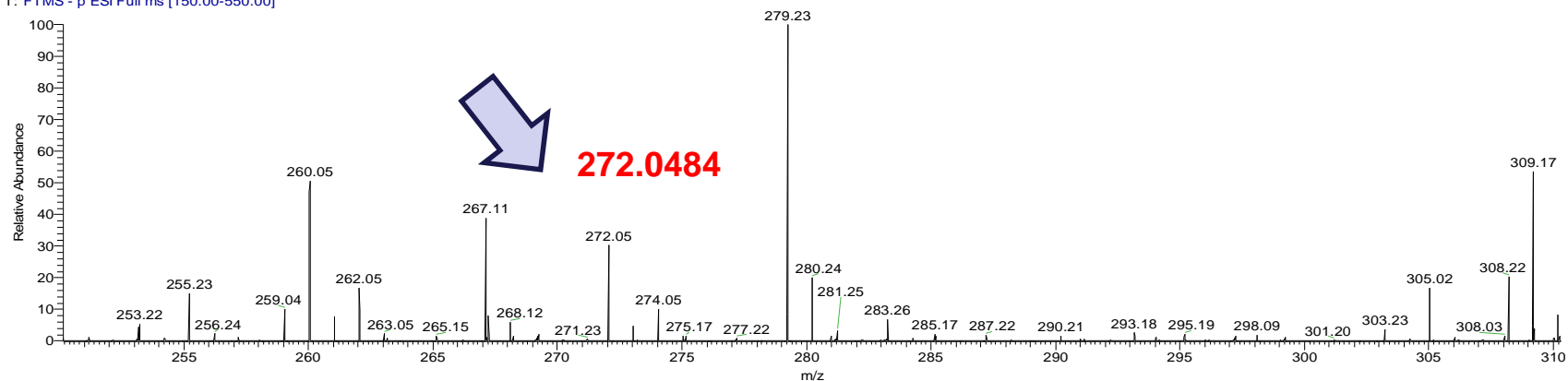
Campione muscolo bovino positivo Carprofene

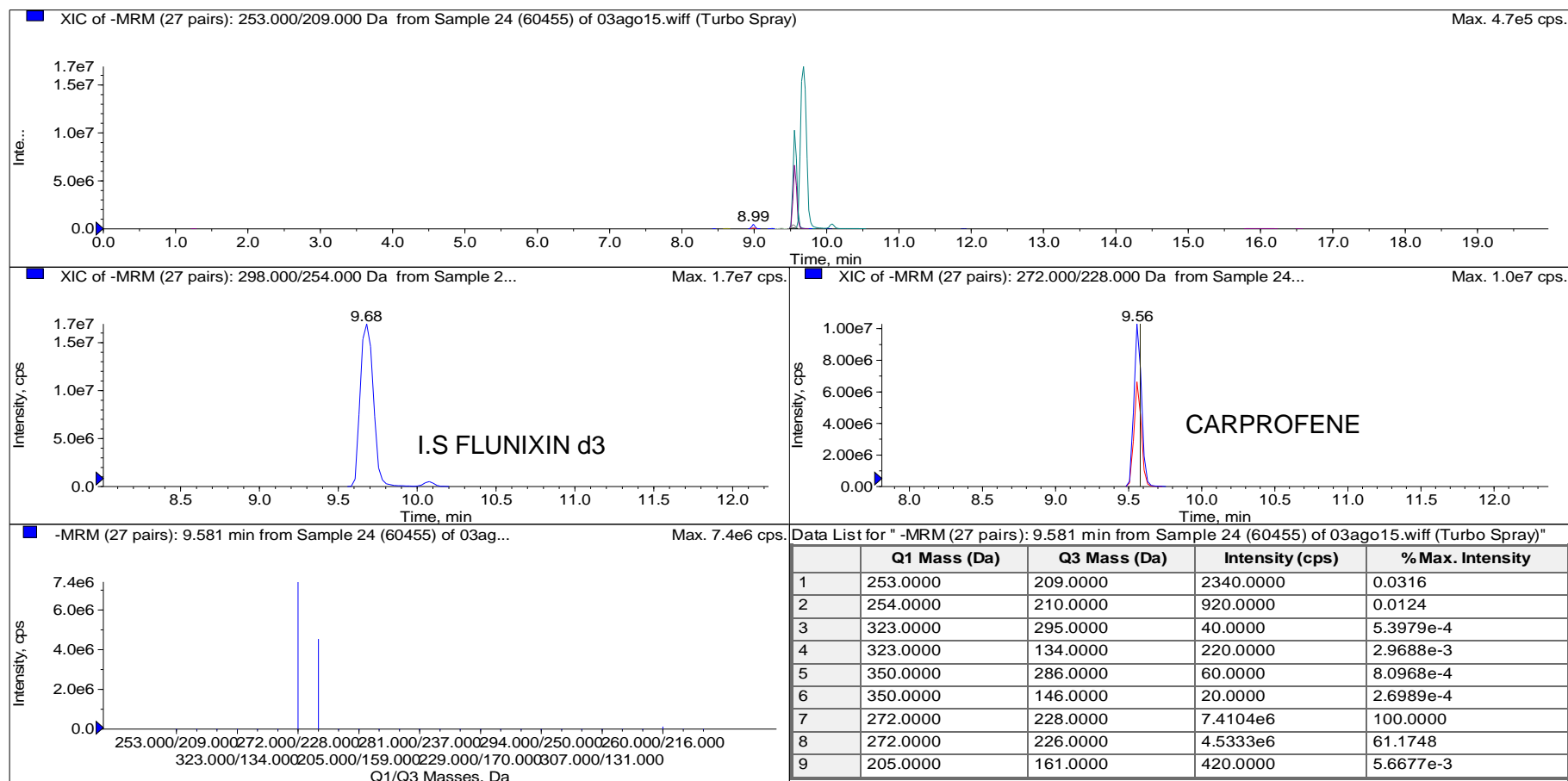
C:\Xcalibur\data\contains\60455car

09/03/15 15:40:33



60455car #1332 RT: 6.87 AV: 1 NL: 4.63E6
T: FTMS - p ESI Full ms [150.00-550.00]

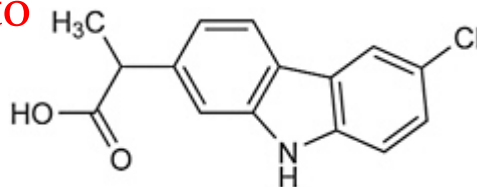




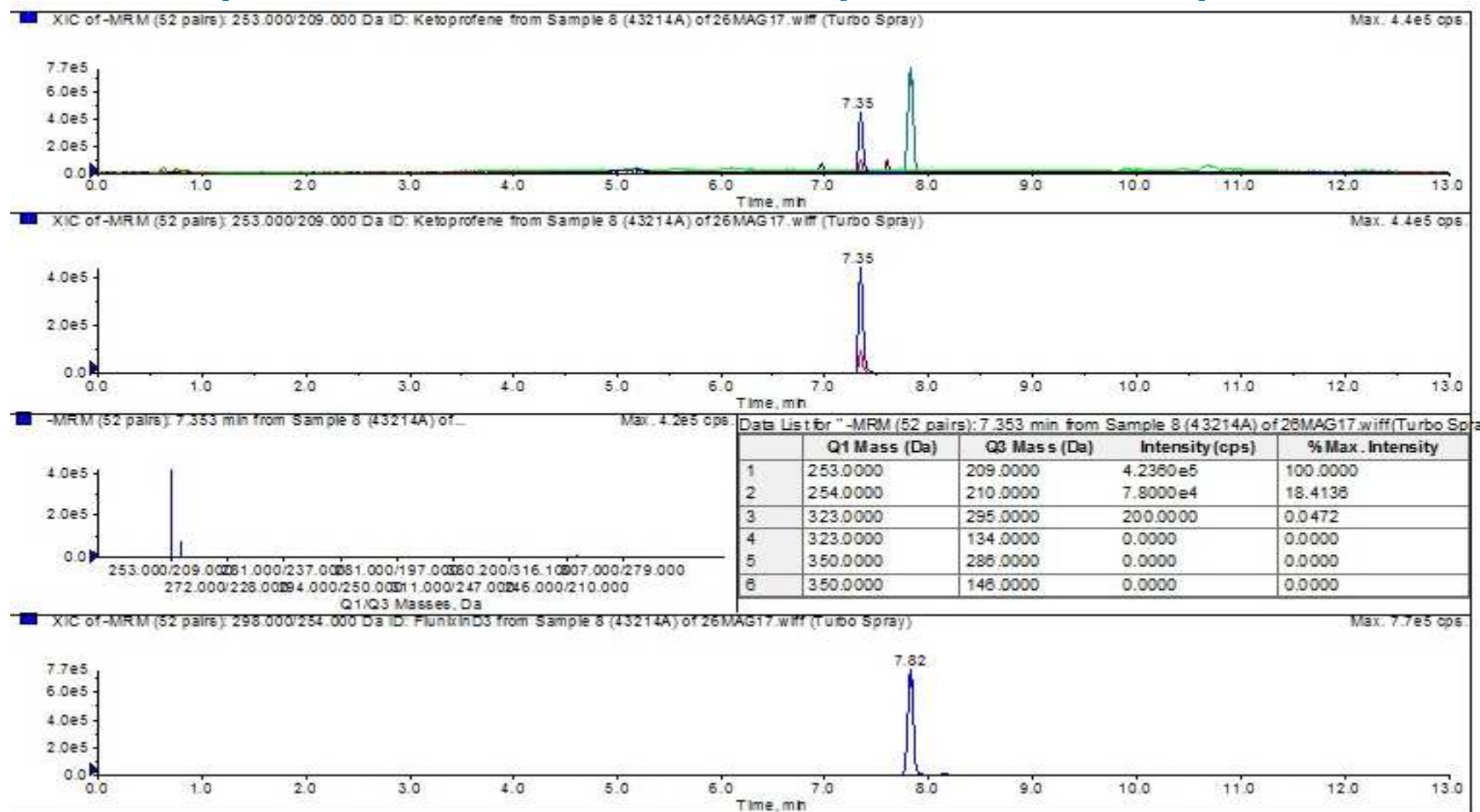
	Sample Name	Sample ID	Sample Type	File Name	Analyte Peak Area (counts)	Analyte Peak Height (cps)	Analyte Concentration (ng/mL)	Standard Query Status	Use Record	Record Modified	Calculated Concentration (ng/mL)	Accuracy (%)
1	BIANCO		Unknown	03ago15.wiff	6.63e+006	0.00e+000	N/A	N/A		<input checked="" type="checkbox"/>	< 0	N/A
2	60455A		Unknown	03ago15.wiff	1.75e+007	5.67e+006	N/A	N/A		<input checked="" type="checkbox"/>	107.	N/A
3	60455B		Unknown	03ago15.wiff	1.48e+007	4.13e+006	N/A	N/A		<input type="checkbox"/>	93.5	N/A
4	STD0		Standard	03ago15.wiff	-4.69e+006	0.00e+000	0.00	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	< 0	N/A
5	STD50		Standard	03ago15.wiff	7.15e+006	2.03e+006	50.0	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	55.4	111.
6	STD100		Standard	03ago15.wiff	1.55e+007	4.40e+006	100.	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	97.1	97.1
7	STD150		Standard	03ago15.wiff	2.71e+007	7.98e+006	150.	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	155.	103.
8	STD200		Standard	03ago15.wiff	3.53e+007	9.36e+006	200.	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	196.	98.1
9	Agg100		Unknown	03ago15.wiff	1.63e+007	4.56e+006	N/A	N/A		<input type="checkbox"/>	101.	N/A

CARPROFENE 100 µg/Kg
LMR 500 µg/kg

Trattamento non dichiarato



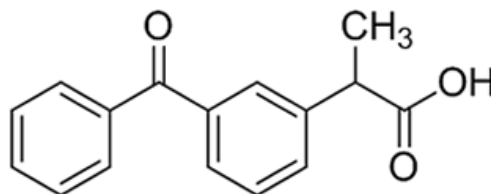
Campione muscolo bovino positivo Ketoprofene



	Sample Name	Sample ID	Sample Type	File Name	Analyte Peak Area (counts)	Analyte Peak Height (counts)	Analyte Conc.	Standard Query	IS Peak Area (counts)	IS Peak Height (counts)	Use Record	Record Modified	Calculated Concentration	Accuracy (%)
1	Bianco		Unknown	26MAG17.	3.44e+00	1.40e+003	N/A	N/A	5.04e+006	1.27e+006			0.474	N/A
2	sta100ppb		Standard	26MAG17.	4.43e+00	1.71e+005	100.	N/A	3.07e+006	7.56e+005			100.	100.
3	std5ppb		Standard	26MAG17.	2.71e+00	9.19e+003	5.00	N/A	3.62e+006	8.68e+005			5.21	104.
4	43214A		Unknown	26MAG17.	1.27e+00	4.50e+005	N/A	N/A	2.61e+006	6.94e+005			339.	N/A
5	43214B		Unknown	26MAG17.	1.28e+00	4.68e+005	N/A	N/A	2.58e+006	7.38e+005			343.	N/A
6	agg5ppb		Unknown	26MAG17.	2.37e+00	1.02e+004	N/A	N/A	3.87e+006	1.02e+006			4.25	N/A
7	agg100pp		Unknown	26MAG17.	5.89e+00	1.98e+005	N/A	N/A	4.10e+006	1.09e+006			99.8	N/A
8	agg300pp		Unknown	26MAG17.	1.30e+00	5.28e+005	N/A	N/A	2.98e+006	6.73e+005			302.	N/A
9	agg500pp		Unknown	26MAG17.	2.16e+00	8.26e+005	N/A	N/A	2.93e+006	6.45e+005			510.	N/A

KETOPROFENE 341 µg/Kg
LMR non previsto

Trattamento non dichiarato



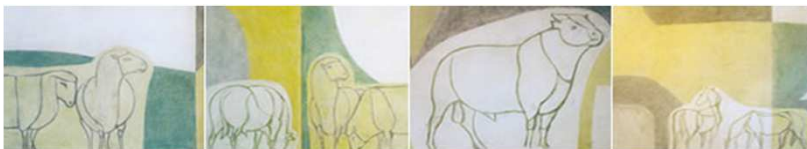
Lo scandalo della carne di cavallo

Febbraio 2013 in Irlanda, in seguito a controlli si trovano hamburger di bovino con carne di cavallo.

Attivazione del sistema di Allerta



L'aumento dei controlli mette in evidenza la presenza in hamburger, lasagne, ed altri preparati, etichettati come prodotti a base di carne bovina, **carne di cavallo con percentuali di tra il 25 e il 60%**



RACCOMANDAZIONE DELLA COMMISSIONE

del 19 febbraio 2013

relativa a un piano coordinato di controllo volto a stabilire la prevalenza di pratiche fraudolente
nella commercializzazione di determinati prodotti alimentari

(2013/99/UE)

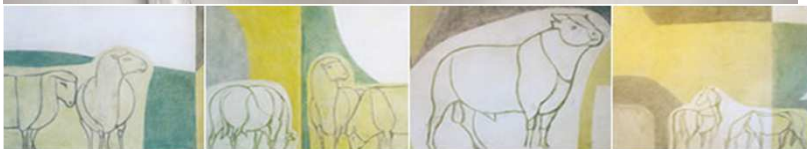
19 febbraio attività straordinaria di controllo condotta su tutto il territorio nazionale da concludersi il 31 marzo 2013, con l'obiettivo è verificare la presenza di carne di cavallo non dichiarata sull'etichetta o contenente fenilbutazone.



Tracce di fenilbutazone nella carne equina sono indice di un'immissione illecita nella filiera alimentare di carcasse di cavalli sportivi trattati con questa sostanza.



Crisi del settore ippico: diminuzione e cessazione dell'attività di numerosi impianti sportivi → introduzione illecita dei cavalli da corsa nella catena alimentare umana.

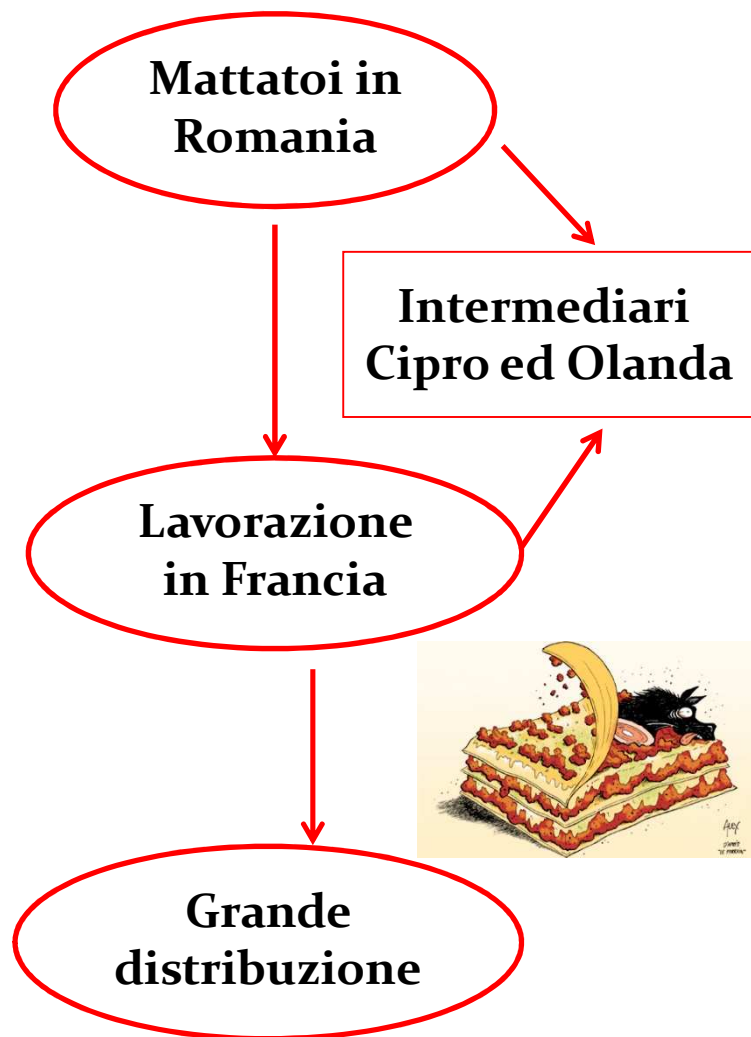




6.329 controlli nei 23 Stati membri, 3.600 per accertare la presenza di DNA di carne equina e 3.115 per fenilbutazone. 167 di questi test (il **4,64%**) hanno rilevato la **presenza di tracce di DNA di carne equina** e 16 test (lo **0,51%**) hanno accertato la presenza di residui di **fenilbutazone**



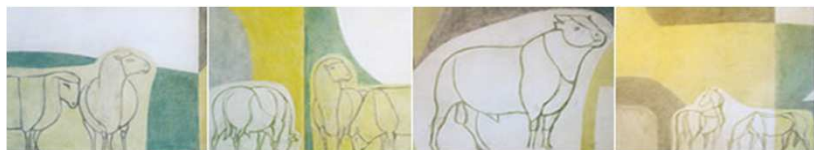
Filiera dei prodotti incriminati



I sette passaggi delle lasagne di cavallo in cinque Paesi



Fonte: AFP, LE MONDE





Ministero della Salute

In Italia

Comunicato stampa n. 87

Data comunicato: 15 aprile 2013

454 campioni – 93 positivi per la
presenza di carne equina non dichiarata

Carne equina: Italia trasmette dati finali a Commissione UE

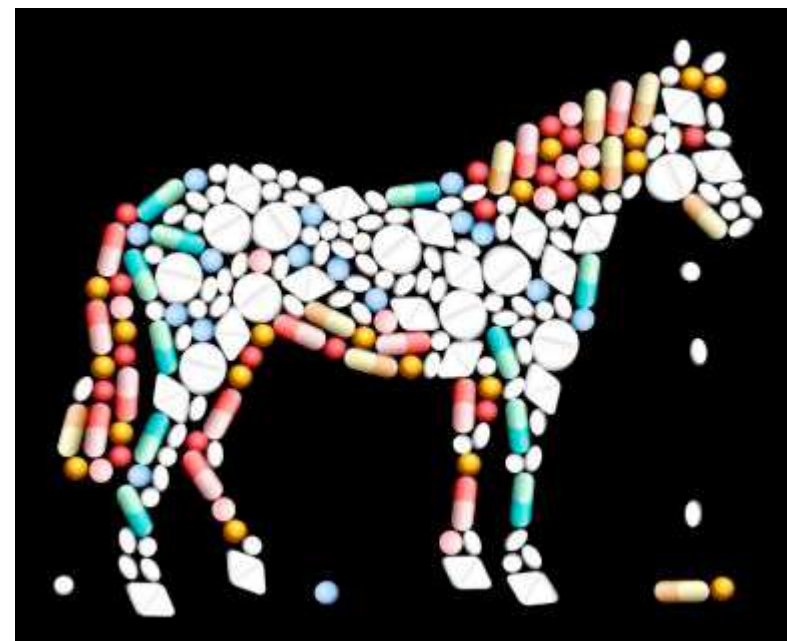
Sono stati trasmessi questa sera dal Ministero della Salute alla Commissione europea, i risultati delle attività di controllo predisposte in seguito alla Raccomandazione del 19 febbraio, dopo la scoperta della presenza di carne equina non dichiarata in prodotti a base di carne. Il Ministero è intervenuto sia tramite una capillare attività straordinaria di controllo condotta su tutto il territorio nazionale dai Carabinieri per la Tutela della Salute (NAS), sia attraverso la rete del Servizio Sanitario Nazionale con un'intensificazione dell'ordinaria attività di vigilanza e controllo sulle carni di equidi di provenienza nazionale ed estera. L'attività ha permesso di individuare, in prodotti commercializzati e/o etichettati come contenenti carni bovine (es. carni macinate, prodotti a base di carne, preparazioni di carne), carne equina non dichiarata in etichetta, inoltre è servita per ricercare fenilbutazone in carni equine. In particolare sono stati prelevati dai NAS 454 campioni, di cui 93 risultati positivi per presenza di carne equina superiore all'1% per cento, che doveva invece essere dichiarata. Relativamente alla ricerca di fenilbutazone sono stati analizzati 323 campioni di muscolo equino e 51 campioni di sangue. In nessun campione è stato rinvenuto fenilbutazone.

La commissione UE domani pubblicherà i risultati di tutti gli Stati membri.

323 muscolo e 51 di sangue tutti negativi per fenilbutazone



Nei mesi di febbraio e marzo 2013, il laboratorio Residui è stato coinvolto nella emergenza fenilbutazone nelle carni equine attraverso l'analisi di 178 campioni per la ricerca di AINS e cortisonici, nel muscolo e plasma di equini su campioni provenienti da diverse regioni Italiane coprendo circa il 40 % dei controlli totali italiani per tali molecole



Nel corso dei controlli sono stati confermati 3 campioni di muscolo positivi per desametasone in carne macinata equina



Allerta finita?



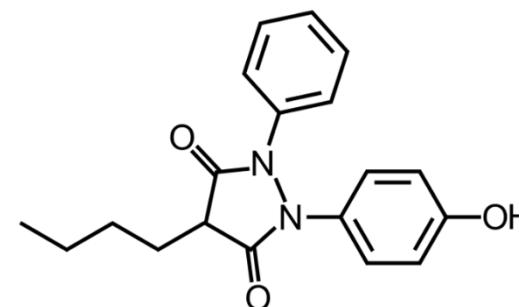
Nuovo caso nel 2017

Nel corso del 2017, durante l'analisi di campioni ufficiali, sono stati ritrovati 2 campioni di hamburger di cavallo non conformi per la presenza di fenilbutazone e del suo metabolita, l'ossifenbutazone.



Fenilbutazone: 16,3 µg/kg – 8,2 µg/kg

Ossifenbutazone: 8,8 µg/kg – 6,4 µg/kg



Conclusioni

- Per tutelare la salute dei consumatori è importante monitorare la presenza di eventuali residui di sostanze ad azione antinfiammatoria nei prodotti di origine animale e verificare il rispetto dei LMR.
- Pur essendo autorizzato l'utilizzo di Ains e cortisonici a solo scopo terapeutico, diversi sono i casi di trattamenti illeciti, pertanto è fondamentale un'indagine continua negli animali destinati alle produzioni alimentari.
- La cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa, combina elevata sensibilità e specificità per identificare in maniera univoca gli analiti e quantificarli ai bassi livelli di interesse stabiliti dalle normative di riferimento.



GRUPPO RESIDUI



MOJOTIC12 FESTIVAL
감사하십시오
Asante
choukran
谢谢
tighmmi
gracias
다신을 spasiba
Merci
ありがとう
obrigada
grazie
arigato
thank you
Danke

