

**Progetto di ricerca corrente del Ministero della Salute**  
**IZSLT 005/11 RC**  
**“Monitoraggio di residui di prodotti fitosanitari e contaminanti ambientali in latte materno e alimenti per la prima infanzia di origine animale e vegetale”**

## 1 Introduzione

### 1.1 Obiettivo e fasi del progetto

Il progetto si prefiggeva di caratterizzare e definire i livelli dei contaminanti considerati “Diossine”, “PCB”, “Pesticidi”, “Metalli pesanti”, “Micotossine”, nelle matrici analizzate e di mettere in relazione il profilo del contaminante con la possibile tipologia di inquinamento, per le province del Lazio.

La ricerca si è svolta, come definito in fase di progettazione, in sette fasi espletate dalle quattro unità operative nel seguente modo:

<b>Tipo Unità Operativa</b>	<b>Ente di appartenenza</b>
IMS 1	Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana Direzione operativa chimica – Laboratorio diossine e contaminanti ambientali
IMS 2	Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana Direzione operativa chimica - Laboratorio alimenti per animali
EMS 3	Ospedale pediatrico Bambino Gesù - Roma
EMS 4	Istituto Superiore di Sanità – LNR Pesticidi

<b>Fase</b>	<b>Descrizione</b>	<b>Personale coinvolto</b>
1	Ricerca bibliografica e definizione dello stato dell’arte in materia di metodi innovativi in materia di analisi dei contaminanti nei prodotti per la prima infanzia.	Dott. F. Busico (UO.1), Dott.ssa K. Russo (U.O.2), Dott. A. Ubaldi (U.O.1).
2	Impostazione della sperimentazione mediante composizione di gruppi omogenei/natura contaminante per tipologia di matrice considerata, predisposizione del modello sperimentale (classe di residui, sviluppo metodo analitico di conferma). Criteri di campionamento finalizzati ad ottenere informazioni sulla distribuzione dei contaminanti sulle matrici considerate.	Dott. G. Salvatori, (U.O.4), Dott.ssa L. Simona (U.O.4), Dott. F. Busico (UO.1), Dott.ssa K. Russo (U.O.2).

3	Sviluppo e ottimizzazione dei metodi analitici di conferma utilizzati nell'analisi dei contaminanti oggetto della ricerca.	Dott.ssa K. Russo (U.O.2), Dott. A. Ubaldi (U.O.1), Dott. R. Dommarco (D. Attard Barbini) (U.O.3), Dott.ssa G. Amendola (U.O.3), Dott.ssa P. Pelosi (U.O.3)
4	Campionamento delle matrici e risultati analitici	Dott. G. Salvatori, (U.O.4), Dott.ssa V. Pannone (U.O.4), Dott. A. Ubaldi (U.O.1), Dott.ssa K. Russo (U.O.2), Dott.ssa F. Fiorucci (U.O.1), Sig. S. Berretta (U.O.1), Dott.ssa G. Mattei (U.O.1), Dott. G. Boschetti (U.O.1), Dott.ssa D. Triolone (U.O.1), Dott. P. Di Giustino (U.O.1), Dott. D. Lucchetti (U.O.1), Dott.ssa M. Mancuso (U.O.1).
5	Analisi statistica e valutazione dei risultati	Dott.ssa F. Iacoponi *, Dott. F. Busico
6	Relazione finale del progetto	Dott. F. Busico (U.O.1), Dott. G. Salvatori (U.O.4), Dott. B. Neri**, Dott.ssa K. Russo (U.O.2), D. Attard Barbini.
7	Trasferimento dei risultati ottenuti mediante presentazioni specifiche a convegni nazionali e/o internazionali	

\* Osservatorio epidemiologico dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana "M. Aleandri"

\*\* Responsabile della D.O. Chimica dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana "M. Aleandri"

Nello schema seguente si riporta il piano analitico elaborato in fase di progettazione che descrive le matrici prelevate, la numerosità campionaria prevista e quella effettiva. Per il latte materno i campioni effettivi sono stati 81, contro quelli previsti di 60, effettuando su di essi l'analisi di pesticidi clorurati, "diossine" ( policlorodibenzodiossine PCDD e policlorodibenzofurani PCDF), policlorobifenili diossina simili e non diossinasimili (PCB-DL e PCB-NDL), metalli pesanti, stesse analisi sono state effettuate sul latte artificiale con in più l'aflatossina M1. Non sono stati prelevati campioni di liofilizzati, preferendo ad essi gli omogeneizzati di più ampio consumo.

Sulle matrici a base vegetale sono stati ricercati i pesticidi fosforati e le micotossine, mentre su quelle di origine animale le analisi sono le stesse del latte materno.

Matrice		Analiti					Numero previsto	Numero effettuato
		PCDD/F	PCB-DI	PCB-NDL	Metalli pesanti	-		
Latte materno	Pesticidi clorurati	PCDD/F	PCB-DI	PCB-NDL	Metalli pesanti	-	60	81
Latte artificiale	Pesticidi clorurati	PCDD/F	PCB-DI	PCB-NDL	Metalli pesanti	Aflatossina M1	q.b.	10
Liofilizzati di verdure e frutta	Pesticidi	Patulina (frutta)	-	-	-	-	q.b.	-
	PCDD/F	PCB-DI	PCB-NDL	Pesticidi	Metalli pesanti	-	q.b.	-

Liofilizzati di carne, pesce, formaggio	Aflatossina M1						q.b.	12
	(Solo formaggi)							
Omogeneizzati verdure e frutta	Pesticidi	Patulina (Frutta)	-	-	-	-	q.b.	12
Omogeneizzati di carne pesce, formaggio	PCDD/F	PCB-DI	PCB-NDL	Pesticidi	Metalli pesanti	-	q.b.	22
Creme e farine di cereali (riso, mais, tapioca)	Pesticidi	Micotossine	-	-	-	-	q.b.	6

## 1.2 Inquinanti organici persistenti

Con il termine di inquinanti organici persistenti (POPs, Persistent Organic Pollutants) si indica un gruppo di sostanze tossiche, persistenti, bioaccumulabili e disponibili al trasporto ambientale su lunghe distanze. La dispersione su scala globale è legata alle proprietà chimico-fisiche di questi composti: i POPs sono resistenti alla degradazione chimica e biologica e persistono nel suolo, nelle acque e negli organismi viventi per molto tempo. Fanno parte dei POPs considerati in questo studio, le “diossine”, i policlorobifenili, i pesticidi clorurati.

L’esposizione ai contaminanti persistenti di origine antropogenica diretta e indiretta, diffusi nell’ambiente, porta nell’uomo ad una tossicità cronica dovuta alla dose estremamente bassa assunta quotidianamente dalla dieta, e provenienti da innumerevoli fonti di contaminazione alimentari.

Le sostanze oggetto del nostro studio provocano effetti di tossicità cronica alle concentrazioni presenti nelle matrici analizzate e sono l’effetto cancerogeno, genotossico, mutageno e teratogeno, altri effetti sono oggetto di studi che trovano ostacolo non conoscendo la reale dose giornaliera assunta dall’individuo. Non ultimi e forse i più insidiosi sono gli effetti dovuti ad esempio alle diossine ed i PCB diossina simili, tali contaminanti mimano l’attività di sostanze endogene degli organismi. Le dosi assunte dai neonati e dai bambini, mediante il latte materno e da altri tipi di alimentazione previsti dal progetto, hanno un impatto negativo sicuramente diverso da quello dell’adulto, a tale effetto si contrappongono i benefici della lattazione con latte materno. [5,6,7]

Va ricordato che l’esposizione ad agenti tossici durante la vita fetale, di cui la presenza nel latte materno è indicatore indiretto, è in assoluto la più pericolosa, vista la complessità e rapidità con cui avviene lo sviluppo di organi e tessuti in questa fase. Ed è proprio l’esposizione in utero o addirittura attraverso le cellule germinali che può condizionare lo stato di salute non solo nell’infanzia ma anche nella vita adulta, con possibilità di trasmissione trans generazionale dei danni [11]

I POPs, considerati in questo studio sono composti liposolubili e si accumulano nei lipidi dei vegetali e degli animali, dove possono raggiungere concentrazioni potenzialmente rilevanti sul piano tossicologico. Essi si

accumulano in alimenti quali carne, pesce, uova e latte e raggiungono la massima concentrazione (biomagnificazione) nell'uomo che è all'apice della catena alimentare, soprattutto nel tessuto adiposo.

Tali sostanze, unitamente ad altri inquinanti, sono trasferite dalla madre al feto sia durante la gestazione, sia durante l'allattamento, il latte umano è una matrice unica per il monitoraggio biologico in considerazione anche della bassa invasività del metodo di raccolta.

Oltre al latte umano, altre matrici prese in considerazione in questo studio sono i cosiddetti formulati a base di latte d'inizio, il baby food e i prodotti a base di cereali, che costituiscono l'alimentazione del bambino dopo lo svezzamento.

Gli alimenti per lattanti o bambini nella prima infanzia si dividono in due categorie: gli alimenti a base di cereali e il "baby food", i primi sono prodotti essenzialmente a partire da uno o più cereali macinati e tuberi o rizomi, i secondi coprono tutte le altre tipologie di alimenti.

Per il contenuto di POPs nei prodotti alimentari destinati ai lattanti e alla prima infanzia la Comunità Europea ha emanato una serie di regolamenti che riportano i limiti massimi consentiti e i livelli di intervento, tra i più recenti c'è il Reg. CE 1259/2011 per le diossine e i pcb (tabella 1), il Decreto 9 aprile 2009, n. 82 per i pesticidi (tabella 2)

Tabella 1. Limiti massimi consentiti nei prodotti alimentari destinati ai lattanti e alla prima.

Prodotto	Somma di diossine e pcb diossina-simili (OMS-PCDD/F- PCB-TEQ)	Somma di diossine e PCB diossina-simili (OMS-PCDD/F- PCB-TEQ)	Somma di PCB 28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 e PCB180
Prodotti alimentari destinati ai lattanti e alla prima infanzia	0,1 pg/g di peso umido	0,2 pg/g di peso umido	1,0 ng/g di peso umido
Latte crudo e prodotti lattiero caseari, compreso il grasso del burro	2,5 pg/g di grasso	5,5 pg/g di grasso	40 ng/g di grasso

Tabella 2. Limiti massimi consentiti per i pesticidi nei prodotti alimentari destinati ai lattanti e alla prima infanzia Decreto 9 aprile 2009, n. 82.

Prodotto	Pesticidi
Alimenti per lattanti e gli alimenti di proseguimento	0,01 mg/kg prodotto pronto per il consumo o ricostituito

### 1.3 Micotossine

L'altro gruppo di contaminanti è quello delle micotossine, del quale fanno parte un numero elevato di sostanze prodotte dal metabolismo delle muffe, quelle ricercate sono, le aflatossine M1, B1, B2, G1 e G2, l'Ocratossina A, lo Zearalenone, la Patulina.

La presenza di Micotossine negli alimenti può essere nociva per la salute umana poiché può causare effetti avversi di vario tipo, come il cancro e la mutagenicità, disturbi a livello ormonale, gastrointestinale e renale. Alcune micotossine sono inoltre immunosoppressive e riducono la resistenza alle malattie infettive.

Per quanto concerne il rischio tossicologico associato all'ingestione di cibo contaminato da micotossine, la comunità europea ha emanato regolamento che fissano i livelli massimi di contaminazione dei prodotti destinati all'alimentazione per la prima infanzia nella tabella 3 sono riportati i limiti massimi consentiti (Reg. CE 1881/2006– Reg. CE 1126/2007).

Tabella 3. Limiti massimi consentiti per alcune micotossine riportati dal Regolamenti CE 1881/2006 e 1126/2007.

Prodotto	AFB1 µg/kg	AF totali µg/kg	AFM1 µg/kg	OTA µg/kg	Patulina µg/kg
Alimenti per l'infanzia e alimenti a base di cereali destinati a lattanti e prima infanzia	0.1	-	-	0.5	-
Alimenti per lattanti e alimenti di proseguimento compresi il latte per lattanti e il latte di proseguimento	-	-	0.025	-	-
Alimenti dietetici a fini medici speciali destinati in modo specifico ai lattanti	0.1	-	0.025	0.5	-
Alimenti a base di cereali trasformati (esclusi quelli a base di granoturco) e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini	-	-	-	-	-
Alimenti destinati ai lattanti e ai bambini diversi dagli alimenti a base di cereali	-	-	-	-	10

#### 1.4 Metalli pesanti

Nel latte materno sono presenti in quantità misurabile metalli, quali piombo, cadmio, mercurio, assunti sia con la dieta (p.e. pesce contaminato con mercurio) che con l'esposizione ambientale. Tuttavia poiché i metalli non sono lipofili, la massima concentrazione di questi agenti si ritrova nel sangue piuttosto che nel latte, ed è quindi probabile che l'esposizione prenatale a questi tossici sia più rilevante di quella neonatale attraverso l'allattamento <sup>(28)</sup>. La potenziale esposizione della prima infanzia alla contaminazione da metalli pesanti è da ricercare prevalentemente negli alimenti di origine animale usati dopo lo svezzamento, come i formulati a base di latte, omogeneizzati, di pesce, carne, formaggio.

Tabella 4. Limiti massimi consentiti di piombo in alcune matrici alimentari e alimenti per l'infanzia.

Prodotto alimentare	Tenori massimi (mg/kg di peso fresco)
Latte crudo, latte trattato termicamente e latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte	0,020

## 1.5 Campionamento.

I campioni sono stati raccolti secondo il rationale, i prelievi degli alimenti per l'infanzia sono effettuati in parte nelle rivendite al dettaglio (supermercati e farmacie) a cura dell'U.O.C. 1 ed in parte sono quelli sottoposti a controllo ufficiale. Nella tabella 3 sono riportati il numero di campioni previsti e quelli realmente effettuati.

Per il campionamento del latte umano sono state arruolate 81 madri nutrici residenti nella regione Lazio che avessero partorito da meno di 45 giorni, afferenti nei diversi punti nascita di Rieti, Fondi, Viterbo, Frosinone e Roma ed afferenti all'Ospedale Bambino Gesù di Roma dal 2013 al 2015, così ripartiti: 16 per la provincia di Viterbo, 24 per la provincia di Roma, 13 per la provincia di Rieti, 13 per la provincia di Latina e 15 per la provincia di Frosinone. I criteri utilizzati per la selezione delle donatrici prevedevano: età materna compresa tra 25 e 40 anni, residenti da almeno 10 anni nelle province esaminate, madri di neonati sani nati a termine (età gestazionale 37-42 settimane) con peso del neonato compreso tra 2500 g e 4000 g, da gravidanza fisiologica normo decorsa. L'approvazione alla ricerca è stata data dal comitato etico dell'Ospedale Bambino Gesù. Tutte le madri arruolate sono state adeguatamente informate sugli obiettivi dello studio, e ad ognuna delle partecipanti è stato sottoposto un consenso informato da accettare. Ogni partecipante allo studio ha dovuto compilare un questionario con i dati relativi ad età, città ed area di residenza, essere o meno fumatrice, esposizione a contaminanti durante le ore di lavoro, Body mass index prima della gravidanza, incremento di peso in gravidanza, dieta seguita (porzioni di pesce e latticini consumati durante la settimana), tipo di acqua bevuta ed informazioni sulla gravidanza.

Sono stati prelevati volumi di latte che variano tra i 20 e i 233 g mediante un tiralatte fornito dal centro nascita del Bambino Gesù. Subito dopo il prelievo, il latte è stato posto in un contenitore di vetro e conservato nel frigo a + 4°C per un massimo di 48 ore. A seguire è stato congelato a – 20°C fino al ritiro del campione. I campioni di latte sono poi trasportati presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana "M. Aleandri" per lo svolgimento dell'attività analitica e sottoposti singolarmente all'analisi.