

Corso di Formazione Itinerante IV Edizione

*Il carry-over da  
coccidiostatici*

*C. Civitareale, M. Fiori e P. Stacchini*

Torino, 22 aprile 2015 - IZS PLVA



Istituto Superiore di Sanità

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare  
Laboratorio Nazionale di Riferimento additivi nei mangimi



# Definizioni

**Contaminante:** qualsiasi agente biologico o chimico, corpo estraneo o altre sostanze non intenzionalmente aggiunte agli alimenti o ai mangimi che possano compromettere la sicurezza o l'idoneità degli alimenti e/o dei mangimi (*adattato da Codex Alimentarius*)

**Contaminazione:** l'introduzione o la presenza di un contaminante nell'alimento/mangime o nell'ambiente dell'alimento/mangime (*adattato da Codex Alimentarius*)

**Contaminazione crociata:** contaminazione di una materia prima o di un prodotto con un'altra materia prima o prodotto (*Manuale Europeo di corretta prassi per la produzione industriale di mangimi sicuri aAf e FEDIOL*)

**Carry-over:** trasferimento di sostanze o prodotti da un lotto di produzione ad un altro immediatamente successivo (*da European feed manufacturers Guide - FEFAC*)



# Contaminazione crociata - possibili cause

## PRODUZIONE

- ✓ Uso delle stesse linee di produzione per mangimi medicati/additivati e non
- ✓ Scarsa pulizia attrezzature (miscelatore) e locali
- ✓ Emissione di polveri e liquidi
- ✓ Mancata separazione di zone di stoccaggio materiali finiti
- ✓ Caratteristiche fisiche delle sostanze chimiche (elettrostaticità)
- ✓ Premiscele in polvere anziché granulari

## ALLEVAMENTO

- ✓ Uso di stessi silos per mangimi medicati/additivati e non
- ✓ Scarsa pulizia di attrezzature per movimentazioni
- ✓ Scarsa pulizia mangiatoie o sistemi erogazione acqua
- ✓ Contaminazione fra sacchi o recipienti aperti
- ✓ Caratteristiche fisiche delle sostanze chimiche (elettrostaticità)



## Carry-over di additivi

Tra i fenomeni di contaminazione crociata nei processi di produzione dei mangimi, uno degli eventi più rilevanti e comuni è il trasferimento (carry-over) di additivi da un lotto ad un altro

Questa inevitabile contaminazione può verificarsi oltre che in tutte le fasi della produzione e della lavorazione, anche durante lo stoccaggio e il trasporto dei mangimi



# Carry-over fenomeno inevitabile

ma

gli OSM devono mettere in opera azioni per contenere i fenomeni di trascinamento di additivi (principi attivi) e prevenire livelli di contaminazione non sicuri (adozione di Manuali di corretta prassi di produzione)

- ✓ **Regolamento (CE) n. 183/2005**, che stabilisce requisiti per l'igiene dei mangimi - prendere le opportune misure riguardo a strutture e attrezzature, produzione, stoccaggio e trasporto per evitare contaminazioni crociate
- ✓ **Direttiva 2002/32/CE** - applicare buone pratiche di produzione volte a tenere sotto controllo il fenomeno di carry-over inevitabile di coccidiostatici per prevenire contaminazioni potenzialmente pericolose



# LG Ministero della Salute

Linee Guida del Ministero della Salute  
(19/10/2006): Produzione di mangimi medicati  
- misure per ridurre la contaminazione  
crociata

il documento contiene misure per la riduzione delle contaminazioni crociate nella produzione dei mangimi medicati, ad opera dei principi attivi medicamentosi e per minimizzare gli effetti indesiderati, in modo da tutelare la salute umana, degli animali e la salubrità dell'ambiente



# Contaminazione crociata - possibili rischi

Specie "non bersaglio" - possibili effetti negativi (effetti tossici) in seguito al consumo di mangimi contenenti tracce tecnicamente inevitabili di additivi/principi attivi (es.: presenza di coccidiostatici ionofori in mangimi per cavalli)

Specie "bersaglio" - superamento degli LMR nei prodotti di origine animale

Rischio maggiore se:

- Mangimi per animali in fase di finissaggio
- Mangimi per animali da produzione continua: uova e latte



# Contaminazione crociata

Le famiglie di principi attivi che più frequentemente danno luogo a fenomeni di CC sono:

Tetracicline

Sulfamidici

**Coccidiostatici**

Penicilline, Macrolidi, Chinolonici





## Coccidiostatici

Il Regolamento (EC) N. 1831/2003

autorizza 11 principi ad azione  
anticoccidiostatica:

Decochinato, Diclazuril, bromidrato di  
Alofuginone, Lasalocid sodio, Maduramicina  
ammonio alfa, Monensin sodico, Narasina,  
Nicarbazina, cloridrato di Robenidina,  
Salinomicina sodica, Sempduramicina sodica



## Coccidiostatici

I coccidiostatici, sulla base delle loro caratteristiche chimiche, sono suddivisi in due gruppi:

**ionofori** - monensin sodico, lasalocid sodico, maduramicina ammonio, narasin, salinomicina sodica e semduramicina sodica

gruppo di **quattro prodotti di sintesi** di natura non ionofora - decochinato, cloridrato di robenidina, l'alofuginone, diclazuril e nicarbazina



## Contaminazione crociata da coccidiostatici - un problema sanitario

Per valutare se la presenza di coccidiostatici non "previsti" nei mangimi possa avere ripercussioni sul piano sanitario

la Commissione Europea ha chiesto all'EFSA di esprimere un proprio parere in merito al rischio per le specie animali non bersaglio e per la salute del consumatore associato all'uso di mangimi contaminati a seguito di fenomeni di trascinamento di **coccidiostatici ed istomonostatici** autorizzati come additivi (2007-2008)



## Pareri EFSA

**Decoquinate** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by decoquinate authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 656, 1-26.

**Diclazuril** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by diclazuril authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 716, 1-31

**Halofuginone** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by halofuginone hydrobromide authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 657, 1-31

**Lasalocid** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on Cross-contamination of non-target feedingstuffs by lasalocid authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2007) 553, 1-46



## Pareri EFSA

**Maduramicin** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by maduramicin authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 594, 1-30

**Monensin** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by monensin authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 592, 1-40

**Narasin** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by narasin authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2007) 552, 1-35



# Pareri EFSA

**Nicarbazin** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by nicarbazin authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 690, 1-34

**Robenidine** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by robenidine authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 655, 1-29

**Salinomycin** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by salinomycin authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 591, 1-38

**Semduramicin** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by semduramicin authorised for use as a feed additive, *The EFSA Journal* (2008) 593, 1-27



## EFSA - Conclusioni: specie non target

Effetti nocivi sulla salute di specie non target alimentate con mangimi ad un livello fino al 10 % della dose max autorizzata sono improbabili tranne nel caso di:

**Monensin** - effetti nocivi sulla salute negli animali non bersaglio possono insorgere se la contaminazione crociata del mangime supera un livello del 5% del livello massimo autorizzato di monensin nel mangime per le specie animali bersaglio

**Salinomicina** - probabili effetti avversi per la salute dei cavalli risultanti dall'assunzione di salinomicina in seguito a contaminazione crociata del mangime, anche in caso di contaminazione incrociata pari al 2%. Non sono previsti effetti tossici per altre specie animali non bersaglio



## EFSA - Conclusioni: consumatori

Esiste un rischio trascurabile per la salute dei consumatori, derivante dall'ingestione di residui nei tessuti degli animali esposti a mangime che ha subito una contaminazione crociata fino ad un livello pari al 10% della concentrazione massima autorizzata per le specie animali bersaglio

**Alofuginone** - Vista la natura sconosciuta e la tossicità dei residui nelle specie aviarie, il gruppo CONTAM non ha potuto trarre conclusioni sul potenziale impatto di tale esposizione per i consumatori





## Normativa europea - mangimi

### Direttiva 2009/8/CE della Commissione

che modifica l'allegato I della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i tenori massimi di coccidiostatici o istomonostatici presenti per effetto di carry-over inevitabile in mangimi destinati a specie non bersaglio

### Regolamento (UE) N. 574/2011 della Commissione

che modifica l'allegato I della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i livelli massimi di nitrito, melamina, *Ambrosia* spp. e carry-over di alcuni coccidiostatici e istomonostatici e che consolida gli allegati I e II

### Regolamento (UE) N. 744/2012 della Commissione

che modifica gli allegati I e II della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i livelli massimi di arsenico, fluoro, piombo, mercurio, endosulfan, diossine, *Ambrosia* spp., *diclazuril* e *lasalocid A sodico* e le soglie d'intervento per le diossine



# Normativa europea - residui

## Regolamento CE N. 124/2009 della Commissione

che fissa i tenori massimi di coccidiostatici o istomonostatici presenti negli alimenti in conseguenza del carry-over inevitabile di tali sostanze in mangimi destinati a specie non bersaglio

## Regolamento (UE) N. 610/2012 della Commissione

recante modifica del regolamento (CE) n. 124/2009 della Commissione, del 10 febbraio 2009, che fissa i tenori massimi di coccidiostatici o istomonostatici presenti negli alimenti in conseguenza del carry-over inevitabile di tali sostanze in mangimi destinati a specie non bersaglio



## Motivazioni alla base della Direttiva 2009/8/CE della Commissione

- ✓ Garantire il buon funzionamento del mercato interno attraverso norme comunitarie armonizzate
- ✓ Tutelare la salute degli animali
- ✓ Tutelare la salute dei consumatori

DIRETTIVA 2009/8/CE DELLA COMMISSIONE

del 10 febbraio 2009

che modifica l'allegato I della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i tenori massimi di coccidiostatici o istomonostatici presenti per effetto di carry-over inevitabile in mangimi destinati a specie non bersaglio

Per stabilire tenori massimi si è tenuto conto:

- ✓ Adeguate pratiche di fabbricazione
- ✓ ALARA o livello più basso ragionevolmente conseguibile

**Carry over 3% del tenore max autorizzato**

Specie non bersaglio meno sensibili

**Carry over 1% del tenore max autorizzato**

Specie non bersaglio sensibili

Mangimi di finissaggio (fase finale del ciclo d'ingrasso somministrati nel periodo che precede la macellazione)

Contaminazione crociata di altri tipi di mangime destinati a specie bersaglio ai quali non siano aggiunti coccidiostatici o istomonostatici

Mangimi destinati a specie non bersaglio «da produzione alimentare continua», quali le mucche da latte o le galline ovaiole, (qualora sia possibile trasferimento di coccidiostatici da mangimi agli alimenti)

# REGOLAMENTO (UE) N. 574/2011 DELLA COMMISSIONE

del 16 giugno 2011

che modifica l'allegato I della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i livelli massimi di nitrito, melamina, *Ambrosia* spp. e carry-over di alcuni coccidiostatici e istomonostatici e che consolida gli allegati I e II

SEZIONE VII: ADDITIVI PER MANGIMI AUTORIZZATI PRESENTI IN MANGIMI DESTINATI A SPECIE NON BERSAGLIO IN SEGUITO A CARRY-OVER INEVITABILE

Coccidiostatico	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali <sup>(1)</sup>	Contenuto massimo in mg/kg (ppm) di mangime con un tasso di umidità del 12 %			
1. Decochinato	Materie prime per mangimi	0,4	3. Bromidrato di alofuginone	Materie prime per mangimi	0,03
	Mangimi composti per			Mangimi composti per	
	— specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 16 settimane)	0,4		— specie volatili ovaiole, galline ovaiole e tacchini (> 12 settimane)	0,03
	— polli da ingrasso prima della macellazione quando l'uso di decochinato è proibito (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	0,4		— polli da ingrasso e tacchini (< 12 settimane) prima della macellazione quando l'uso di bromidrato di alofuginone è proibito (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	0,03
				— altre specie animali	0,09
				Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di bromidrato di alofuginone non è autorizzato	( <sup>2</sup> )
2. Diclazuril	— altre specie animali	1,2	4. Lasalocid sodico	Materie prime per mangimi	1,25
	Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di decochinato non è autorizzato	( <sup>2</sup> )		Mangimi composti per	
	Materie prime per mangimi	0,01		— cani, vitelli, conigli, specie equine, animali da latte, specie volatili ovaiole, tacchini (> 16 settimane) e galline ovaiole (> 16 settimane)	1,25
	Mangimi composti per			— polli da ingrasso, galline ovaiole (< 16 settimane) e tacchini (< 16 settimane) prima della macellazione quando il lasalocid sodico è proibito (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	1,25
	— specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 16 settimane) e tacchini da ingrasso (> 12 settimane)	0,01		— altre specie animali	3,75
	— conigli da ingrasso e da riproduzione prima della macellazione quando l'uso di diclazuril è proibito (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	0,01		Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di lasalocid sodico non è autorizzato	( <sup>2</sup> )
	— specie animali diverse dalle galline ovaiole (< 16 settimane), polli da ingrasso, faraone e tacchini da ingrasso (< 12 settimane)	0,03			
Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di diclazuril non è autorizzato	( <sup>2</sup> )				

## REGOLAMENTO (UE) N. 574/2011 DELLA COMMISSIONE

Coccidiostatico	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali (1)	Contenuto massimo in mg/kg (ppm) di mangime con un tasso di umidità del 12 %
	Mangimi composti per	
	— specie equine, conigli, tacchini (> 16 settimane), specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 16 settimane)	0,05
	— polli da ingrasso e tacchini (< 16 settimane) prima della macellazione quando l'uso di maduramicina ammonio alfa è proibito (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	0,05
	— altre specie animali	0,15
	Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di maduramicina ammonio alfa non è autorizzato	(?)

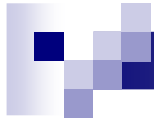
5. Maduramicina ammonio alfa	Materie prime per mangimi	0,05
6. Monensin sodico	Materie prime per mangimi	1,25
	Mangimi composti per	
	— specie equine, cani, piccoli ruminanti (ovini e caprini), anatre, bovini, animali da latte, specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 16 settimane) e tacchini (> 16 settimane)	1,25
	— polli da ingrasso, galline ovaiole (< 16 settimane) e tacchini (< 16 settimane) prima della macellazione quando il monensin sodico è proibito (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	1,25
	— altre specie animali	3,75
	Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di monensin sodico non è autorizzato	(?)
7. Narasina	Materie prime per mangimi	0,7
	Mangimi composti per	
	— tacchini, conigli, specie equine, specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 16 settimane)	0,7
	— altre specie animali	2,1
	Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di narasina non è autorizzato	(?)



# REGOLAMENTO (UE) N. 574/2011 DELLA COMMISSIONE

8. Nicarbazina	Materie prime per mangimi	1,25	10. Salinomicina sodica	Materie prime per mangimi	0,7
	Mangimi composti per			Mangimi composti per	
	— specie equine, specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 16 settimane)	1,25		— specie equine, tacchini, specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 12 settimane)	0,7
	— altre specie animali	3,75		— polli da ingrasso, galline ovaiole (< 12 settimane) e conigli da ingrasso prima della macellazione quando la salinomicina sodica è proibita (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	0,7
Coccidiostatico	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali <sup>(1)</sup>	Contenuto massimo in mg/kg (ppm) di mangime con un tasso di umidità del 12 %		— altre specie animali	2,1
9. Cloridrato di robenidina	Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di nicarbazina (da solo o in associazione con la narasina) non è autorizzato	( <sup>2</sup> )		Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di salinomicina sodica non è autorizzato	( <sup>2</sup> )
	Materie prime per mangimi	0,7	11. Semduramicina sodica	Materie prime per mangimi	0,25
	Mangimi composti per			Mangimi composti per	
	— specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 16 settimane)	0,7		— specie volatili ovaiole e galline ovaiole (> 16 settimane)	0,25
	— polli da ingrasso, conigli da ingrasso e da riproduzione e tacchini prima della macellazione quando l'uso di cloridrato di robenidina è proibito (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	0,7		— polli da ingrasso prima della macellazione quando l'uso di semduramicina sodica è proibito (mangimi per la fase finale del ciclo di ingrasso)	0,25
— altre specie animali	2,1	— altre specie animali		0,75	
	Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di cloridrato di robenidina non è autorizzato	( <sup>2</sup> )		Premiscele destinate alla produzione di mangimi per cui l'uso di semduramicina sodica non è autorizzato	( <sup>2</sup> )

(<sup>2</sup>) Il livello massimo della sostanza presente nella premiscela è la concentrazione corrispondente a un tenore non superiore al 50 % del livello massimo stabilito per i mangimi se sono rispettate le istruzioni d'uso della premiscela.



**REGOLAMENTO (UE) N. 744/2012 DELLA COMMISSIONE**

**del 16 agosto 2012**

**che modifica gli allegati I e II della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i livelli massimi di arsenico, fluoro, piombo, mercurio, endosulfan, diossine, *Ambrosia spp.*, *diclazuril* e *lasalocid A sodico* e le *soglie d'intervento per le diossine***

Ha introdotto modifiche per tener conto delle autorizzazioni rilasciate per *diclazuril* e *Lasalocid A sodico*



# REGOLAMENTO (CE) N. 124/2009 DELLA COMMISSIONE

del 10 febbraio 2009

che fissa i tenori massimi di coccidiostatici o istomonostatici presenti negli alimenti in conseguenza del carry-over inevitabile di tali sostanze in mangimi destinati a specie non bersaglio

## ALLEGATO

### Tenori massimi negli alimenti

Sostanza	Prodotti alimentari	Tenore massimo in µg/kg (ppb) di peso fresco
1. Lasalocid sodico	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dal pollame:	
	— latte	1
	— fegato e reni	50
	— altri prodotti alimentari	5
2. Narasin	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso:	
	— uova	2
	— latte	1
	— fegato	50
	— altri prodotti alimentari	5
3. Salinomicina sodica	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso e da conigli da ingrasso:	
	— uova	3
	— fegato	5
	— altri prodotti alimentari	2
4. Monensin sodico	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso, dai tacchini e dai bovini (mucche da latte incluse):	
	— fegato	8
	— altri prodotti alimentari	2
5. Semduramicina	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso	2
6. Maduramicina	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso e dai tacchini	2
7. Robenidina	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso, dai tacchini e da conigli da ingrasso e da riproduzione:	
	— uova	25
	— fegato, reni, pelle e grasso	50
	— altri prodotti alimentari	5
8. Decochinato	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso, dai bovini e dagli ovini, eccetto gli animali da latte	20
9. Alofuginone	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso, dai tacchini e dai bovini (mucche da latte escluse):	
	— uova	6
	— fegato e reni	30
	— latte	1
	— altri prodotti alimentari	3

Sostanza	Prodotti alimentari	Tenore massimo in µg/kg (ppb) di peso fresco
10. Nicarbazina	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso:	
	— uova	100
	— latte	5
	— fegato e reni	100
	— altri prodotti alimentari	25
11. Diclazuril	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso, dai tacchini da ingrasso, dai conigli da ingrasso e da riproduzione, dai ruminanti e dai suini:	
	— uova	2
	— fegato e reni	40
	— altri prodotti alimentari	5

REGOLAMENTO (UE) N. 610/2012 DELLA COMMISSIONE

del 9 luglio 2012

recante modifica del regolamento (CE) n. 124/2009 della Commissione, del 10 febbraio 2009, che fissa i tenori massimi di coccidiostatici o istomonostatici presenti negli alimenti in conseguenza del carry-over inevitabile di tali sostanze in mangimi destinati a specie non bersaglio

L'allegato del regolamento (CE) n. 124/2009 è così modificato:

(1) la voce 1 relativa al lasalocid sodico è sostituita dalla voce seguente:

«1. Lasalocid sodico	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dal pollame e dai bovini:	
	— latte:	1
	— fegato:	50
	— reni:	20
	— altri prodotti alimentari.	5»

(2) la voce 6 relativa alla maduramicina è sostituita dalla voce seguente:

«6. Maduramicina	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso e dai tacchini:	
	— uova:	12
	— altri prodotti alimentari.	2»

(3) la voce 10 relativa alla nicarbazina è sostituita dalla voce seguente:

«10. Nicarbazina (residuo: 4,4'-dinitrocarbanilide (DNC))	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso:	
	— uova:	300
	— latte:	5
	— fegato:	300
	— reni:	100
	— altri prodotti alimentari.	50»

(4) la voce 11 relativa al diclazuril è sostituita dalla voce seguente:

«11. Diclazuril	Alimenti di origine animale ottenuti da specie animali diverse dai polli da ingrasso, dai tacchini da ingrasso, dalle faraone, dai conigli da ingrasso e da riproduzione, dai ruminanti e dai suini:	
	— uova:	2
	— fegato e reni:	40
	— altri prodotti alimentari.	5»



## Obiettivi per il controllo

La definizione di tenori massimi di **coccidiostatici** nei mangimi e di MRL negli alimenti di O.A. impone agli OSM e alle autorità di controllo di assicurare che le produzioni messe in commercio e utilizzate negli allevamenti siano conformi a tali prescrizioni.

Per raggiungere tale obiettivo bisogna da una parte scegliere strategie di intervento sulle linee produttive dei mangimi in modo da prevenire le contaminazioni crociate e contemporaneamente disporre di metodi le cui prestazioni analitiche consentano di rivelare concentrazioni di principio attivo ai livelli richiesti



## Contaminazione crociata - Controlli PNAA

Il PNAA prevede un'attività di campionamento per la verifica della conformità della normativa in materia di contaminazione crociata nei mangimi.

Tra gli obiettivi del PNAA

“verificare il possesso ed il mantenimento dei requisiti strutturali e funzionali dell'impresa del settore dei mangimi oggetto di controllo ufficiale, con particolare riguardo a procedure e accorgimenti finalizzati ad evitare le contaminazioni (fisiche, chimiche e biologiche) ivi comprese le contaminazioni crociate”



# Contaminazione crociata - Campionamento PNAA

Indicazioni per il campionamento:

"Per quanto riguarda il campionamento per la verifica della cross contamination e del carry over, andranno privilegiati gli impianti di produzione (industriali e per autoconsumo) e i mezzi di trasporto di mangimi sfusi. Si sottolinea che anche la caratteristica della sostanza utilizzata (carica elettrostatica, granulometria) può influire sul livello di cross contamination dei mangimi."



## Contaminazione crociata - Campionamento PNAA

“privilegiare, nell’attività di campionamento volta al rilevamento di contaminazioni crociate, i mangimi prodotti successivamente alla produzione di un mangime medicato o con coccidiostatico”



# Contaminazione crociata - Campionamento PNAA

LG sul campionamento per il controllo ufficiale degli alimenti per gli animali per l'attuazione del PNAA (2012-2014)

Le modalità di esecuzione del campionamento si differenziano in relazione alla tipologia di distribuzione delle sostanze o prodotti all'interno delle partite da campionare:

**Categoria A)** sostanze o prodotti distribuiti in modo uniforme

**Categoria B)** sostanze o prodotti distribuiti in modo non uniforme

Additivi dichiarati - requisiti quantitativi per il controllo delle sost./prod. Categoria A)

Additivi carry-over - requisiti quantitativi per il controllo delle sost./prod. Categoria B)



# **DETERMINAZIONE DI COCCIDIOSTATICI METODI UFFICIALI**

**REGOLAMENTO (CE) N. 152/2009 DELLA COMMISSIONE**

**del 27 gennaio 2009**

**che fissa i metodi di campionamento e d'analisi per i controlli ufficiali degli alimenti per gli animali**

**REGOLAMENTO (UE) N. 691/2013 DELLA COMMISSIONE**

**del 19 luglio 2013**

**che modifica il regolamento (CE) n. 152/2009 per quanto riguarda i metodi di campionamento e di  
analisi**





## METODI UFFICIALI

**Alofuginone bromidrato** consente di determinare il contenuto negli alimenti per animali - limite di quantificazione 1 mg/Kg

**Diclazuril** consente di determinare il contenuto negli alimenti per animali e nelle premiscele - limite di rilevazione è di 0,1 mg/Kg - limite di quantificazione 0,5 mg/Kg

**Robenidina cloridrato** consente di determinare il contenuto negli alimenti per animali - limite di quantificazione 5 mg/Kg

**Lasalocid sodico** consente di determinare il contenuto negli alimenti per animali e nelle premiscele - limite di rilevazione 5 mg/Kg - limite di quantificazione 10 mg/Kg

## Tenori massimi in mg/Kg in mangimi destinati a specie non bersaglio (Reg. 574/2011)

Principio attivo	Materie prime	Mangimi composti	
		Specie meno sensibili (3% del tenore massimo ammesso)	Specie più sensibili (1% del tenore massimo ammesso)
lasalocid	1,25	3,75	1,25
narasin	0,7	2,1	0,7
salinomicina	0,7	2,1	0,7
monensin	1,25	3,75	1,25
semduramicina	0,25	0,75	0,25
maduramicina	0,05	0,15	0,05
robenidina	0,7	2,1	0,7
decochinato	0,4	1,2	0,4
alofuginone	0,03	0,09	0,03
nicarbazina	1,25 (0,5)	3,75 (1,5)	1,25 (0,5)
diclazuril	0,01	0,03	0,01

# Confronto limiti analitici richiesti/limiti analitici metodi ufficiali

Analita	Concentrazione max mangime (mg/Kg)	10 % (mg/Kg)	3 % (mg/Kg)	1 % (mg/Kg)	Metodo ufficiale (mg/Kg)
Decochinato	40	4	1,2	0,4	-----
Diclazuril	1	0,1	0,03	0,01	0,1* - 0,5**
Alofuginone	3	0,3	0,09	0,03	1**
Lasalocid	125	12,5	3,75	1,25	5*- 10**
Maduramicina	5	0,5	0,15	0,05	-----
Monensin	125	12,5	3,75	1,25	-----
Narasin	70	7	2,1	0,7	-----
Nicarbazina	50	1,25* (5)	1,25 * (1,5)	1,25 * (0,5)	-----
Robenidina	(66) 70	7	2,1	0,7	5**
Salinomicina	70	7	2,1	0,7	-----
Semduramicina	25	2,5	0,75	0,25	-----

\*Limite di rilevazione

\*\* Limite di quantificazione

\* Livello minimo di quantificazione



## LNR-ISS

Attività di ricerca relativa alla problematica della cross contaminazione da coccidiostatici nei mangimi

Progetto fondi Ministero della Salute-ricerca finalizzata 2008 (IZS Puglia e Basilicata, ISS, IZS Mezzogiorno, IZS PLVA)

Sviluppo metodi di analisi multiresiduo a livello di interesse; differenti matrici (mangimi e tessuti); tecniche analitiche e loro validazione

ISS: sviluppo metodo multiresiduo - UPLC-MS/MS

- ✓ capacità di determinare contemporaneamente tutti gli analiti di interesse
- ✓ limiti di quantificazione in linea con gli obiettivi del controllo ufficiale
- ✓ semplicità e velocità di esecuzione delle attività legate alla preparazione del campione (procedura di estrazione e purificazione)



# LNR-ISS

Le molecole prese in esame sono state:

## Standard dei coccidiostatici (n.11)

Decochinato, diclazuril, bromidrato di alofuginone, lasalocid sodico, maduramicina ammonio, monensin sodico, narasina, nicarbazina, cloridrato di robenidina, salinomicina sodica, semduramicina sodica

## Standard interni (n. 6)

Alofuginone-13C6 bromidrato, Decochinato-D5, Metil-diclazuril, Dinitrocarbanilide-D8, Nigericina, Robenidina-D8

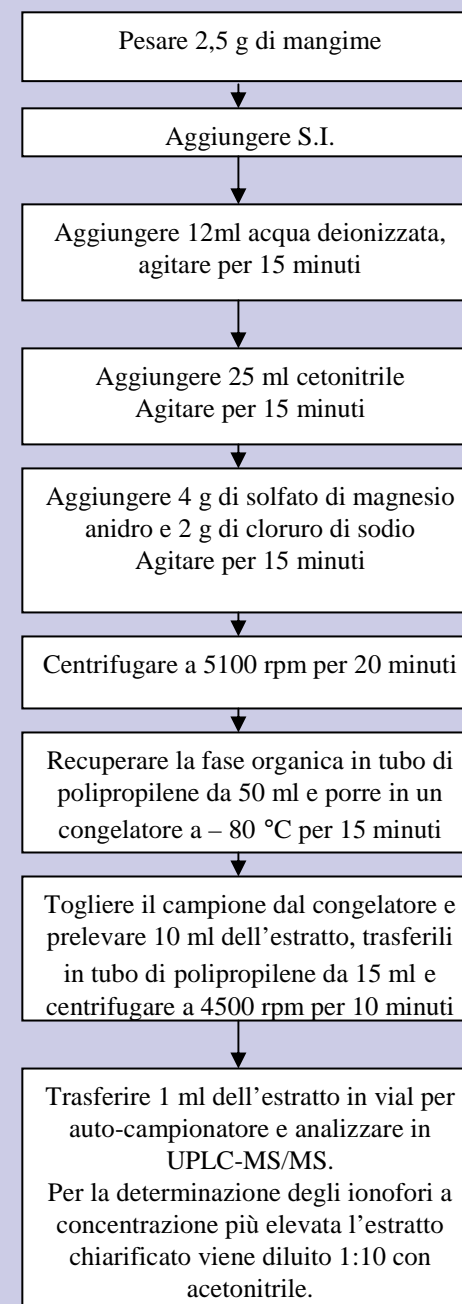
# Metodo UPLC-MS/MS

*Livelli di concentrazione percentuale (mg/kg) degli 11 coccidiostatici (riferiti al tenore massimo autorizzato) utilizzati per costruire la curva di calibrazione riferita a 1g di matrice*

<b>Analita</b>	<b>0,5 %</b>	<b>1 %</b>	<b>2 %</b>	<b>3 %</b>	<b>4 %</b>
<b>ALO</b>	0,015	0,030	0,060	0,090	0,120
<b>DEC</b>	0,200	0,400	0,800	1,2	1,6
<b>DIC</b>	0,005	0,010	0,020	0,030	0,040
<b>LAS</b>	0,625	1,250	2,500	3,750	5,000
<b>MAD</b>	0,025	0,050	0,100	0,150	0,200
<b>MON</b>	0,625	1,250	2,500	3,750	5,000
<b>NAR</b>	0,350	0,700	1,400	2,100	2,800
<b>NIC</b>	0,625	1,250	2,500	3,750	5,000
<b>ROB</b>	0,350	0,700	1,400	2,100	2,800
<b>SAL</b>	0,350	0,700	1,400	2,100	2,800
<b>SEM</b>	0,125	0,250	0,500	0,750	1,000

# Metodo UPLC-MS/MS

## Flow chart



*(modifica metodo Cronly M., et al., Analytica Chimica Acta 700 (2011) 26-33)*

Analyte	Internal standard	Fortification level (% carry over)	Accuracy (%) n=18	Within lab reproducibility (CV, %) n = 18	CC $\alpha$ (mg/kg)		CC $\beta$ (mg/kg)	
					1%	3%	1%	3%
ALO	Halofuginone-13C6	0.5	96.6	15.1	0.035	0.106	0.038	0.115
		1	97.5	11.3				
		3	100.5	11.1				
DEC	D5-Decoquinate	0.5	90.6	11.7	0.456	1.271	0.495	1.404
		1	91.9	9.5				
		3	97.3	3.7				
DIC	metyl-Diclazuril	0.5	87.6	15.0	0.011	0.035	0.013	0.040
		1	93.1	9.8				
		3	98.1	9.5				
LAS	Nigericine	0.5	105.1	7.8	1.370	4.116	1.625	4.691
		1	106.0	5.5				
		3	106.6	5.6				
MAD	Nigericine	0.5	106.6	14.9	0.060	0.177	0.065	0.192
		1	107.7	11.6				
		3	105.2	10.5				
MON	Nigericine	0.5	104.6	12.2	1.411	4.536	1.536	4.612
		1	111.7	7.0				
		3	109.9	6.7				
NAR	Nigericine	0.5	94.8	18.9	0.856	2.398	0.931	2.678
		1	101.4	13.4				
		3	102.9	8.4				
NIC	d8-Dinitrocarbanilide	0.5	94.1	7.6	1.406	3.990	1.498	4.295
		1	97.9	7.8				
		3	96.9	4.0				
ROB	d8-Robenidine	0.5	104.2	8.7	0.774	2.262	0.852	2.572
		1	100.5	6.4				
		3	101.7	4.6				
AL	Nigericine	0.5	101.1	15.0	0.767	2.317	0.847	2.597
		1	101.2	5.8				
		3	107.8	5.8				
SEM	Nigericine	0.5	99.7	16.9	0.319	0.981	0.354	1.076
		1	103.2	16.4				
		3	118.5	15.9				





*GRAZIE  
PER  
L'ATTENZIONE*