

Ministero della Salute

DIPARTIMENTO PER LA SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA, LA
NUTRIZIONE E LA SICUREZZA DEGLI ALIMENTI
DIREZIONE GENERALE DELLA SICUREZZA DEGLI
ALIMENTI E DELLA NUTRIZIONE
Ufficio III - Igiene prodotti di origine animale
Viale Giorgio Riboldi, 5 - 00144 Roma

Regioni e Province Autonome di Trento e Bolzano
Servizi veterinari

OGGETTO: Procedure Operative Standard per la rilevazione delle biotossine marine.

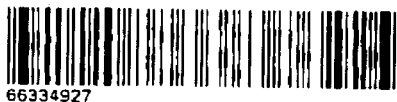
Con la presente si comunica che il Centro Ricerche Marine di Cesenatico, in qualità di Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine, in ottemperanza ai compiti di cui all'articolo 33 del Regolamento (CE) 882/2004, ha distribuito ai laboratori che operano nell'ambito del controllo ufficiale, in allegato alla nota prot. 331/10, che si allega alla presente, le procedure operative standard per la determinazione delle biotossine marine, raccomandate dal Laboratorio Comunitario di Riferimento, nel rispetto delle metodiche di cui all'allegato III del Regolamento CE 2074/2005.

Nel merito si evidenzia che in riferimento al metodo biologico AOAC 959.08 per la determinazione delle tossine PSP (Paralytic Shellfish Poison) è stato previsto che, i laboratori i quali non eseguono la standardizzazione del saggio biologico, inviino al Laboratorio Nazionale di Riferimento i campioni positivi, ovvero per i quali la tossina è da ritenersi determinabile alla prova qualitativa.

E' stato inoltre previsto che, ai fini dell'accREDITAMENTO, il periodo di recepimento e messa in uso delle nuove metodiche, simili a quelle finora in uso, non potrà essere postposto alla successiva presentazione della documentazione per la verifica da parte dell'ente di accREDITAMENTO.

IL DIRETTORE GENERALE
(Dr. Silvio Borrelli)

Ministero della Salute
DGSAN
0010754-A-13/04/2010



66334927

Cesenatico, 25 marzo 2010

Al **Dott. S. Borrello**
Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali
Ufficio III - Direzione Generale della Sicurezza
degli Alimenti e della Nutrizione
Via Giorgio Ribotta, 5 Angolo V.le Oceano Pacifico
00144 Roma Eur

All' **Istituto Superiore di Sanità**
Viale Regina Elena, 299
00161 - Roma

Agli **Istituti Zooprofilattici Sperimentali**
- Loro Sedi -

All' **ARPA FVG**
Via Cairoli, 14
33057 Palmanova (UD)



Prot. 331/10

Oggetto: Procedure Operative Standard per la rilevazione delle biotossine marine

Con la presente, in qualità di Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine, facendo seguito alla nota prot. 22834-P-1/08/2008 del Ministero della Salute, in adempimento ai compiti che ci spettano ai sensi dell'articolo 33 del Regolamento (CE) N°882/2004, Vi trasmettiamo le nuove procedure operative standard per la determinazione delle biotossine marine.

Si tratta delle metodiche d'analisi riconosciute per la determinazione delle biotossine marine, raccomandate dal Laboratorio Comunitario di Riferimento (LCRMB) e in accordo al "Regolamento (CE) N°2074/2005 Allegato III":

Capitolo I. Metodi di determinazione delle tossine PSP (Paralytic Shellfish Poison).

Per la determinazione di tali tossine devono essere utilizzati il metodo biologico AOAC 959.08 (e relativo allegato) e il metodo chimico AOAC OMA 2005.06 (noto anche come metodo Lawrence).

a) Il metodo biologico AOAC 959.08 è un test su topo che differisce da quello attualmente in uso soltanto per il valore del pH di estrazione; è validato a livello internazionale e pubblicato in AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*).

b) Il metodo chimico AOAC Official Method 2005.06 è un metodo validato a livello internazionale.

Si precisa che il Regolamento (CE) N°1664/2006, nell'Allegato 1 stabilisce che il cosiddetto metodo Lawrence può essere utilizzato come metodo alternativo per l'individuazione delle tossine PSP ma che, in caso di contestazione dei risultati, il metodo di riferimento è quello biologico.

Capitolo II. Metodi di determinazione delle tossine ASP (Amnesic Shellfish Poison).

Per tali tossine deve essere adottato il metodo chimico che utilizza la cromatografia liquida (HPLC) con rivelazione UV, dopo estrazione metanolica. Tale metodo, impiegato internazionalmente, è stato pubblicato in *Journal of AOAC International* (Quilliam *et al.*, 1995, Vol. 78, N°2, pp. 543-554) e successivamente validato, con modifiche minori, dal LCRMB attraverso uno studio interlaboratorio in Europa. In attesa della sua standardizzazione da parte del CEN (*European Committee for Standardization*) i laboratori devono utilizzare tale metodo denominato "*Foodstuffs – Determination of domoic acid in shellfish and finfish by RP-HPLC using UV detection*" CEN/TC 275.

Per la determinazione del tenore totale di ASP nelle parti commestibili dei molluschi, il Regolamento (CE) N°1244/2007 prevede che sia possibile ricorrere anche al metodo AOAC 2006.02 ASP ELISA; in caso di contestazione dei risultati, il metodo di riferimento è il metodo HPLC.

Capitolo III. Metodi di determinazione delle tossine liposolubili.

A livello comunitario è in avanzata fase di approvazione una modifica al Regolamento (CE) N° 2074/2004 per quanto concerne il metodo da utilizzarsi per la ricerca delle biotossine liposolubili; tale modifica, prevede l'utilizzo del metodo chimico in cromatografia liquida (LC) accoppiata alla spettrometria di massa (MS) quale metodo di riferimento. I tempi e i modi di applicazione di questo metodo saranno determinati dal Regolamento in approvazione. E' stato previsto che in attesa dell'entrata in vigore del metodo chimico si possa ancora utilizzare il metodo biologico (EU-Harmonised-SOP-MBA-Lipophilic-Version5-June2009 LCRMB VIGO). Pertanto la metodica che prevede l'utilizzo del test sul topo, attualmente in uso, dovrà essere sostituita dalla Procedura Operativa Standard (SOP) sopraindicata. Tale procedura operativa standard è stata preparata dal Gruppo di Lavoro Europeo dei LNR per l'analisi delle tossine liposolubili. Hanno partecipato al Gruppo, coordinato dal LCR per le Biotossine Marine (Vigo, Spagna), i LNR dei seguenti Paesi: Francia, Irlanda, Italia, Norvegia, Regno Unito. Il Gruppo ha lavorato per l'ottimizzazione della metodica tramite esercizi di *Proficiency Test* eseguiti annualmente dal 2004 e studi collaborativi organizzati *ad hoc* per migliorare il protocollo originale. Il metodo è in grado di rilevare l'acido okadaico e le dinophysistossine, le pectenotossine, gli azaspiracidi e le yessotossine come previsto dal Regolamento (CE) N°853/2004.

Ai fini dell'accreditamento, il periodo di recepimento e messa in uso di queste nuove procedure, del tutto simili a quelle finora utilizzate, non potrà essere posposto alla successiva presentazione della documentazione per la verifica dell'ente di accreditamento.

Si riportano in allegato alla presente i metodi e alcune specifiche tecniche concordate nell'ambito degli incontri annuali fra i laboratori ufficiali, idonee a uniformare il procedimento analitico e a ridurre, ove possibile, il numero di animali da esperimento.

Allegato I: specifica al metodo AOAC 959.08;

Allegato II: "*Foodstuffs – Determination of domoic acid in shellfish and finfish by RP-HPLC using UV detection*" CEN/TC 275;

Allegato III: EU-Harmonised-SOP-MBA-Lipophilic-Version5-June2009 LCRMB VIGO.

Cordiali saluti

IL Coordinatore Tecnico Scientifico

Roberto Poletti

