



*Ministero del Lavoro, della Salute
e delle Politiche Sociali*

DIPARTIMENTO PER LA SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA, LA NUTRIZIONE E LA
SICUREZZA DEGLI ALIMENTI

Segretariato Nazionale Della Valutazione Del Rischio Della Catena Alimentare

COMITATO NAZIONALE PER LA SICUREZZA ALIMENTARE

PARERE N. 2 DEL 12/03/2009

Tenori massimi di melamina negli alimenti

Inquadramento

I dati di contesto di maggior rilevanza appaiono i seguenti:

1. a seguito della nota¹ del 16 ottobre 2008 della DG Sicurezza Alimentare e Nutrizione, il Segretariato Nazionale della Valutazione del Rischio della catena alimentare (SNVR) ha richiesto un parere al Comitato Nazionale per la Sicurezza Alimentare (CNSA) in merito ai tenori massimi accettabili di melamina accettabili negli alimenti.
Il CNSA nella seduta del 28 ottobre 2008 ha deciso di volersi avvalere della consulenza del prof. Carlo Nebbia dell'Università di Torino, del dr. Alberto Mantovani dell'Istituto Superiore di Sanità e del prof. Lodovico Galli dell'Università di Milano;
2. la melamina è una sostanza usata nell'industria plastica per la formazione di resine che trovano impiego anche nella produzione di materiali a contatto con alimenti e medicinali; è inoltre impiegata nella produzione di colle, tessuti, ritardanti di fiamma, fertilizzanti;
3. essendo costituita per oltre il 60% del suo peso da azoto, viene utilizzata in maniera fraudolenta per simulare la presenza di elevati contenuti di proteine negli alimenti;
4. la melamina nell'organismo umano viene eliminata per la maggior parte per via renale, determinando il sovraccarico di tali organi ed il rischio della formazione di calcoli e complicanze con effetti molto gravi per la salute;

¹Si riporta testualmente il quesito posto al CNSA: "A seguito dei recenti avvenimenti registrati in Cina la Commissione Europea ha adottato la Decisione 2008/757/CE, ora sostituita dalla decisione 2008/797/CE, che ha individuato un tenore massimo di melamina pari a 2,5 mg/kg nei prodotti composti contenenti latte e prodotti lattieri.

Tale valore è stato stabilito in base al parere EFSA del 24 settembre 2008 e al documento WHO "melanine and cyanuric acid: toxicity, preliminary risk assessment and guidance on levels in food" del 25 settembre 2008.

Il limite massimo di migrazione di melamina dai materiali e dagli oggetti destinati a venire a contatto con gli alimenti, per i quali è autorizzato l'utilizzo di melamina dalla direttiva 2002/72/CE, è di 30mg/kg negli alimenti.

Pur considerando che tali livelli sono stati individuati nell'ambito di situazioni molto diverse, si chiede a codesto Comitato una valutazione del rischio per la salute dei lattanti e dei bambini in relazione ai tenori di melamina sopra indicati."

5. la Decisione 2008/798/CE del 14 ottobre 2008 impone condizioni speciali per l'importazione di prodotti contenenti latte o prodotti lattieri originari della Cina o da essa provenienti e abroga la Decisione 2008/757/CE della Commissione;
6. la Decisione 2008/921/CE del 9 dicembre 2008 che modifica la Decisione 2008/798/CE.

Valutazione del rischio Melamina

Caratterizzazione della melamina

La melamina (1,3,5-Triazine-2,4,6-triamina, formula bruta $C_3H_6N_6$) si presenta come polvere bianca, scarsamente solubile in acqua. Il suo uso principale è nell'industria della plastica, per la formazione di resine melaminiche, in combinazione con la **formaldeide**.

Può essere il metabolita principale negli animali di un pesticida utilizzato sui vegetali, la **ciromazina**.

Nell'attuale congiuntura, l'utilizzo di melamina, quale prodotto di recupero dalle acque di processo, si configura quale frode in commercio, per aumentare il tenore di azoto nei prodotti alimentari e quindi utilizzata per la simulazione di un maggiore contenuto di proteine. È da sottolineare come il tenore proteico influenzi positivamente il prezzo degli alimenti e dei mangimi e che tale specifica di solito viene inserita tra gli obblighi contrattuali da rispettare.

Metabolismo della melamina

I dati sul metabolismo della melamina sono frammentari. Sperimentazioni condotte con melamina marcata nel ratto (Mast et al., 1983) o con acido cianurico nell'uomo (Allen et al., 1982) depongono per una cinetica rapida e per l'assenza di una sostanziale biotrasformazione di entrambi i derivati triazinici.

Un recente studio (Baynes et al., 2008) condotto in suini trattati per via e.v. con un'unica dose di melamina (6,13 mg/kg p.c.) ha confermato la rapida cinetica di eliminazione del composto senza peraltro fornire dati sull'eventuale genesi di metaboliti.

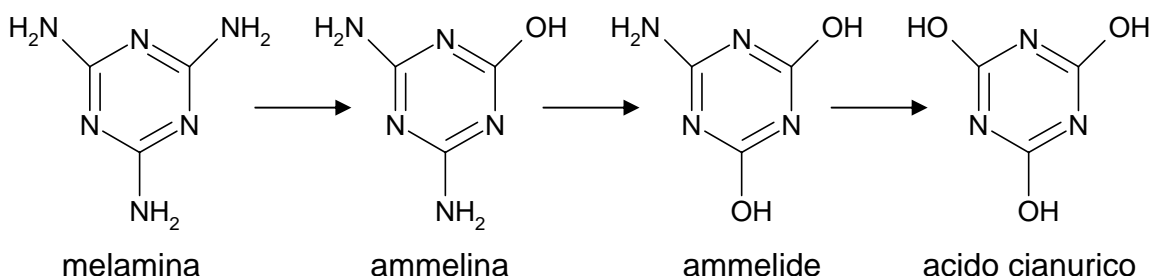


Fig. 1 – metabolismo idrolitico della melamina

In gatti sperimentalmente esposti ad una miscela di melamina e acido cianurico, non sono stati rinvenuti residui di ammelina o ammelide (v. oltre) in ambito renale in quantità superiori al limite di rilevazione, peraltro piuttosto elevato (5 mg/kg) (Puschner et al., 2007).

La melamina, analogamente ad altre S-triazine, viene metabolizzata in varia misura da componenti della flora batterica del suolo (ad es., *Arthrobacter*, *Clavibacter*: de Souza et al., 1998,

Strong et al., 2002) dando origine a derivati mono-, di, e tri-deaminati/idrossilati ammelina, ammelide ed acido cianurico (Fig. 1).

E' verosimile che un analogo processo possa avvenire a livello intestinale o ruminale. Jutzi et al. (1982) hanno descritto l'idrolisi della melamina in acido cianurico da parte di *Pseudomonas* spp. nonché di due ceppi di *Klebsiella pneumoniae*; a sua volta l'acido cianurico viene ulteriormente degradato a biureto, allofanato ed ammoniaca da enzimi della flora microbica (es. *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp.) (Cheng et al., 2005). La liberazione di ammoniaca a livello ruminale in bovini ai quali era stata aggiunta melamina nella razione ed esperimenti *in vitro* condotti incubando il derivato triazinico con fluido ruminale (Newton e Utley, 1978) confermano l'ipotesi di un metabolismo idrolitico della melamina quale quello prospettato in Fig. 1, con la liberazione di composti (ammelina, ammelide, acido cianurico). Per tali metaboliti vi è prova di una relativa biodisponibilità nell'uomo (Allen et al, 1982), negli animali domestici (Puscher et al., 2007; Reimschuessel et al., 2008) e nel ratto (Anders et al., 2008). Questi risultati confermano la necessità di condurre indagini più approfondite sul metabolismo della melamina nelle specie produttrici di alimenti ai fini della valutazione del rischio.

Stima dell'esposizione

I livelli di esposizione derivanti dal rilascio dai materiali a contatto con gli alimenti in cui la melamina è presente al limite massimo comunitario potrebbero portare ad eccedere l'**ADI** (vedi glossario) per i bambini, fascia di consumatori potenzialmente più vulnerabile. Vanno inoltre considerate altre fonti di esposizione, indicate dalla letteratura scientifica e riassunte nel documento pubblicato dalla WHO a conclusione del meeting svoltosi a Ottawa (1-4 dicembre 2008).

Oltre all'uso come additivo illegale in alimenti e mangimi esiste una *esposizione di fondo*, legata alla migrazione da contenitori e stoviglie, in particolare durante la preparazione (compressione ad alte temperature) di cibi acidi quali succhi di agrumi e yogurt. L'esposizione di fondo è stimata $\leq 0,013$ mg/kg p.c./die ed è dello stesso ordine di grandezza della stima effettuata dalla OECD nel 1998 (0,007 mg/kg p.c. die) (Meeting WHO, dicembre 2008).

Vie di esposizione orale:

- la WHO ha messo in rilievo, fra le componenti dell'esposizione di fondo, l'estrazione di melamina durante la preparazione di cibi acidi quali succhi di agrumi e yogurt;
- la melamina è un importante metabolita ambientale dell'erbicida ciromazina nelle piante: nel fagiolo (parti verdi e baccelli) la persistenza dei residui di melamina è più prolungata di quelli della ciromazina, anche se i livelli sono nettamente inferiori (Patakioutas et al., 2007). La melamina è un metabolita ambientale anche di altre triazine utilizzate come erbicidi (Seffernick et al., 2002), anche a seguito di degradazione batterica;
- i dati disponibili non sono sufficienti a stimare la possibile esposizione dei consumatori a melamina e derivati attraverso l'uso di erbicidi;
- materiali a base di resina melamminica a contatto con alimenti rilasciano melamina sia a breve termine (monomeri residui liberi), sia a lungo termine (decomposizione del polimero). La cessione avviene generalmente a livelli inferiori ai 30 mg/kg di matrice alimentare, ma si accompagna anche ad una significativa cessione di formaldeide (anche oltre 15 mg/kg di matrice alimentare). Non sono stati reperiti nuovi dati rispetto al documento "*Il meccanismo di cessione di melamina...*" presentato nella riunione del CNSA del 20 novembre;
- una esposizione orale non alimentare all'acido cianurico è stata evidenziata nelle piscine ove si usano cloroisocianurati per la clorazione dell'acqua, che si decompongono in cloro e acido cianurico. Dufour et al. (2006) hanno stimato che l'ingestione di acqua di piscine è doppia nei

bambini rispetto agli adulti (approssimativamente 37 ml dopo 45 minuti di attiva permanenza in piscina). Questi dati possono portare ad una stima cautelativa dell'esposizione orale non-alimentare a acido cianurico.

Residui negli alimenti di origine animale

Secondo il recente documento della WHO (2008), nonostante la notevole carenza di studi specifici, i dati disponibili indicano il carry-over della melamina aggiunta illegalmente ai mangimi nei prodotti di origine animale (carni, latte, uova). Sono disponibili dati recenti sulla specie suina e su alcune specie ittiche.

a) Suini.

Buur et al. (2008), applicando un modello farmacocinetico messo a punto nel ratto, hanno calcolato che suini esposti per via orale ad una (5,12 mg/kg p.c) o più dosi di melamina ($\leq 5,12$ mg/kg p.c. due volte al giorno per 7 giorni) presenterebbero nel fegato e nel rene residui inferiori al valore guida per la FDA (0,05 mg/kg, basato sulla soglia di determinazione analitica) 24 ore dopo la sospensione del trattamento. Tale modello è in accordo con i dati di cinetica ottenuti da Baynes et al. (2008), che in suinetti svezzati trattati per via e.v. con 6,13 mg di melamina/kg p.c hanno descritto valori di emivita plasmatica media di 4 ore, compatibili con una rapida escrezione renale ed un minimo legame ai tessuti.

Mancano tuttavia dati specifici sulla distribuzione tissutale e sulla deplezione residuale in tale specie in condizioni di esposizione realistiche. Inoltre, i dati disponibili non consentono di escludere completamente che in animali esposti a melamina e con alterazioni subcliniche della funzione renale non possa verificarsi un'alterata cinetica della sostanza con ritenzione a livello tissutale.

b) Prodotti ittici.

Andersen et al. (2008) hanno analizzato 105 campioni di teleostei e crostacei sul mercato U.S.A. mediante un metodo da loro messo a punto (LC-Tandem MS, recupero medio 63,8% con CV 21,5%): 10 campioni (9,5%) presentavano concentrazioni di melamina superiori al LOQ (vedi glossario) (0,05 mg/kg) comunque a livelli $\leq 0,24$ mg/kg. Non viene fornita alcuna indicazione su eventuali differenze fra le specie esaminate né sul criterio del campionamento. Concentrazioni pari a 0,5-6,7 mg/kg sono state osservate nel mangime di salmonidi che presentavano residui muscolari dell'ordine di 0,04-0,12 mg/kg. Si tratta, pertanto di dati meramente preliminari che non consentono, tuttavia, di escludere una possibile esposizione dei consumatori indotta da situazioni quali l'uso di mangimi contenenti melamina in acquacoltura.

Gli stessi AA (Andersen et al., 2008) riportano che il trattamento orale (capsule o intragastrico) per 1-4 giorni con melamina (400 mg/kg p.c.) ha dato luogo alla evidenziazione di residui dell'ordine di grandezza ≥ 50 mg/kg in salmonidi e ≥ 100 mg/kg nel pesce gatto. Un analogo trattamento con 400 mg/kg p.c. di acido cianurico ha dato luogo a concentrazioni di melamina nel muscolo dell'ordine di grandezza di 0.1 mg/kg. Il trattamento combinato con 400 mg/kg p.c. di melamina e 400 mg/kg p.c. di acido cianurico dava luogo a residui di melamina nel muscolo molto inferiori al trattamento con sola melamina dell'ordine di grandezza ≤ 20 mg/kg). A questi livelli di dose si aveva una marcata formazione di cristalli renali. Un aspetto interessante è che il trattamento combinato risultava in un potenziamento della nefrotossicità, e nel contempo induceva una minore formazione di residui tissutali rispetto al trattamento con sola melamina (Reimschuessel et al., 2008)

Andersen et al. (2008) hanno osservato residui muscolari di melamina dell'ordine di grandezza di 0,5 mg/kg in tilapie, pesci d'acqua dolce, sacrificate a distanza di un giorno dal trattamento per 1-3 giorni con dosi di melamina e acido cianurico (3-4 mg/kg p.c. per ciascuna sostanza) che non producevano cristalli renali.

Tuttavia questi studi non permettono di valutare la potenziale esposizione dei consumatori causata da pesci alimentati con mangimi contaminati, a causa della breve durata degli esperimenti, del confuso protocollo sperimentale (molte variazioni nelle dosi e nei tempi di trattamento che, rispetto all'articolo, in questa valutazione si è tentato di chiarire) e dei pochi animali (< 5) per ciascun gruppo sperimentale. Tuttavia, non possono venire trascurate le indicazioni preliminari di una tendenza all'accumulo di melamina in tessuti muscolari di pesci esposti a dosi prive di evidente nefrotossicità.

Valutazione degli effetti dell'esposizione

I principali segni di intossicazione descritti sono riconducibili a insufficienza renale con sintomi caratterizzati da perdita di appetito, depressione, letargia, vomito, diarrea, disuria e cambi improvvisi nell'assunzione di acqua. L'esame strumentale ecografico rileva una ecogenicità a livello di corticale, con liquidi perirenali e dilatazione del bacinetto.

Recenti studi hanno confermato che l'effetto tossicologico critico per (ri)definire il **NOEL** (vedi glossario) è rappresentato dalla nefrotossicità. Un accurato esame clinico, biochimico ed anatomico-istopatologico su gatti di un allevamento esposto ad una partita di mangime contaminato ha confermato che la formazione di cristalli intra-tubulari ed il conseguente danno renale sono gli effetti primari della melamina, e che gli effetti sistemici osservabili sono unicamente conseguenti all'insufficienza renale che origina dal danno tubulare (Cianciolo et al., 2008). Sotto questo profilo è importante sottolineare l'effetto additivo dei metaboliti della melamina – segnatamente dell'acido cianurico – e la notevole differenza di sensibilità legata alla specie. Un recente studio sul ratto (Dobson et al. 2008) ha chiarito che altri due composti correlati a melamina ed acido cianurico, ammelina e ammelide, non hanno alcun effetto nefrotossico a dosi orali ≤ 100 mg/kg p.c. Di contro, in un esperimento condotto nel gatto, l'esposizione simultanea a melamina e acido cianurico, entrambi alle dosi di 32 mg/kg p.c., ha determinato dopo 12 ore la comparsa di sintomi clinici di insufficienza renale, confermati al rilievo anatomico-istopatologico (Puschner et al., 2007).

Alcune specie ittiche presentano una sensibilità maggiore agli effetti nefrotossici, presumibilmente a causa di una cinetica di eliminazione più lenta rispetto ai mammiferi. Nella tilapia, in particolare, l'associazione di dosi (1 x 3 gg) di melamina e acido cianurico pari rispettivamente a 7, 12, 14 e 17 mg/kg p.c. ha sempre determinato la formazione di cristalli (Andersen et al., 2008).

Mancano dati di tossicità umana. La WHO conferma che l'unico effetto importante, osservato in studi su animali da laboratorio, è la formazione di calcoli e cristalli vescicali, composti da melamina, proteine, fosfato ed acido urico, in seguito a esposizione prolungate a dosi sostenute. La contemporanea presenza di acido cianurico facilita la formazione di calcoli. La formazione di calcoli, a sua volta, è alla base della cancerogenesi vescicale osservata negli animali da laboratorio. Nel ratto, il NOEL per la formazione di calcoli, considerato protettivo anche per l'induzione di tumori vescicali, è di 63 mg/kg p.c..

Gli esperti della WHO notano che la assunzione congiunta di melamina e acido cianurico può influenzare il valore di NOEL riducendolo, e presentando quindi un rischio aggiuntivo, ma che i dati sono insufficienti a definire valori-guida.

Diverse TDI (vedi glossario) sono state proposte per la melamina: 0,63 mg/kg p.c. (US FDA, 2007); 0,5 mg/kg p.c. (EFSA, 2008); 0,35 mg/kg p.c. (Health Canada, 2008)

Caratterizzazione del rischio

Considerando il NOEL e numerosi *elementi di incertezza* (differenze di cinetica fra le diverse specie, suscettibilità legata all'età, interazioni fra melamina e acido cianurico, possibili fattori predisponenti legati a patologie renali, uso di diuretici, ecc.) la WHO ha definito un **nuovo TDI** pari a *0,2 mg/kg p.c.* (corrispondente a 12 mg/die per un soggetto di 60 kg e 4 mg/die per un bambino di 20 kg). Il TDI per l'acido cianurico rimane invariato a *1,5 mg/kg p.c.* (corrispondente a 90 mg/die per un soggetto di 60 kg e 30 mg/die per un bambino di 20 kg). La WHO conclude che i limiti definiti da molti paesi di 1 mg/kg nelle formule per l'infanzia e 2,5 mg/kg negli altri alimenti fornirebbero un margine di sicurezza sufficiente (World Health Organization, 2008).

Oltre ai materiali a contatto con alimenti, vanno considerate altre fonti di esposizione che, *per quanto limitate* prese individualmente, danno nel loro complesso ulteriore sostegno alla definizione di *limiti su base cautelativa* negli alimenti:

- la estrazione di melamina nella preparazione di alimenti acidi;
- la mancanza di dati sulla possibile presenza, in prodotti di origine animale, di residui di metaboliti della melamina dovuti ad una biotrasformazione enterica e/o ruminale;
- la presenza di residui nei vegetali in seguito al trattamento con erbicidi a base di triazine, tuttora ampiamente utilizzati, e la relativa genesi di melamina e dei suoi metaboliti nel tubo gastroenterico in seguito all'ingestione di residui di tali erbicidi;
- l'ingestione di acqua di piscine, potenzialmente significativa per i bambini, durante l'attività natatoria.

In questo ambito, riveste specifico interesse la contaminazione, involontaria o fraudolenta, di *mangimi* destinati ad animali da reddito. Sotto questo profilo, viene sottolineata l'esigenza di ottenere dati circa la presenza nei mangimi ed il *carry over* negli alimenti non soltanto della melamina ma anche dei suoi metaboliti. In particolare, alcuni dati suggeriscono che la contaminazione dei mangimi per *acquacoltura* potrebbe dare luogo alla presenza di residui nei prodotti ittici. Inoltre, nell'eventuale definizione di livelli massimi tollerabili di melamina nei mangimi, occorre considerare l'apparente maggiore suscettibilità alla melamina di alcune specie ittiche.

Conclusioni

In conclusione, la recente valutazione della WHO, i nuovi dati tossicologici e le informazioni su altre possibili fonti di esposizione confermano la necessità di stabilire limiti cautelativi relativamente bassi. In particolare, i nuovi valori di TDI proposti (pari a 0,2 mg/kg p.c. rispetto agli 0,5 mg/kg p.c. proposti dall'EFSA) appaiono maggiormente cautelativi in rapporto ai dati disponibili concernenti gli episodi di contaminazione avvenuti recentemente in Cina. A tale proposito, i limiti proposti di 1 mg/kg per gli alimenti destinati all'infanzia e di 2,5 mg/kg per gli altri alimenti definiti in seguito all'allarme per la importazione di prodotti alimentari dalla Cina continuerebbero a fornire sufficienti margini di sicurezza per i consumatori. In analogia lo stesso limite andrebbe applicato su tutti gli altri alimenti.

Alla luce di quanto sopra, il limite massimo di migrazione di melamina dai materiali e dagli oggetti a contatto con gli alimenti, pari a 30 mg/kg di alimento, non appare cautelativo nei confronti della salute del consumatore.

Il Comitato Nazionale per la Sicurezza Alimentare auspica che, le misure di sicurezza alimentare relative ai tenori massimi accettabili di melamina negli alimenti destinati all'uomo e agli animali, non siano applicate esclusivamente ai prodotti originari o provenienti dalla Cina.

GLOSSARIO

ADI (Acceptable Daily Intake): dose considerata innocua per la salute anche se assunta durante una vita o se dovesse essere talvolta superata.

LOQ (Limit of quantitation): Il limite di quantificazione, LOQ, è definito come il livello al di sopra del quale è possibile ottenere risultati quantitativi a un determinato livello di confidenza.

NOEL (No Observed Effect Level): la dose senza effetto (in mg/kg di peso corporeo) rivelata da studi a lungo termine su più specie animali.

TDI (Tolerable Daily Intake): dose media giornaliera, sotto cui i danni sono considerati improbabili

ROMA, 12 marzo 2009

IL PRESIDENTE DEL CNSA
(Dr. Aldo Grasselli)