

# Biotossine marine nei prodotti ittici Come valutare i rischi

Importante stabilire la dose acuta di riferimento e i fattori di incertezza

di Roberto Poletti

Direttore del Centro Ricerche marine, Laboratorio nazionale di riferimento per le Biotossine marine

## Il calcolo dei limiti guida nei prodotti contaminati, con particolare riferimento ai molluschi bivalvi vivi

I prodotti della pesca, pur essendo un ottimo alimento ad alto valore biologico, rappresentano, in determinate circostanze, un idoneo substrato per la proliferazione di microrganismi patogeni. Attraverso la catena alimentare, inoltre, possono accumulare e metabolizzare molecole di varia natura, più o meno complesse, conosciute col nome di biotossine marine.

Le conoscenze acquisite in questi ultimi anni inducono a ritenere che la sintesi delle biotossine marine, chimicamente definite, avvenga tramite le microalghe e i batteri.

Le biotossine prodotte dalle alghe o "ficotossine" sono quelle numericamente più importanti; si tratta di un gruppo eterogeneo di composti che presentano strutture chimiche originali, talvolta complesse, e possono avere un comportamento strettamente idrofilico o altamente lipofilo; sono identificate, per consuetudine, in base ai sintomi macroscopici di avvelenamento che procurano all'uomo o accompagnate, alcune volte, dal nome della tossina o dall'animale che le contiene.

Le tossine idrosolubili comprendono:

- i composti responsabili della paralisi nell'uomo per consumo di molluschi bivalvi, conosciuta più comunemente come *Paralytic Shellfish Poisoning* (PSP);
- i composti responsabili di forme di amnesia temporanea, conosciuta come *Amnesic Shellfish Poisoning* (ASP);
- le tetrodotossine (TTXs) di origine batterica, composti che per struttura e sintomatologia sono simili alle tossine responsabili di PSP, ma arrivano all'uomo attraverso il consumo di vari prodotti ittici, principalmente pesci.

Le tossine liposolubili, invece, comprendono i composti responsabili di:

- *Diarrhetic Shellfish Poisoning* (DSP): alle tossine responsabili di DSP sono state in passato associate altre tossine liposolubili, trovate molto spesso insieme all'acido okadaico e ai suoi derivati, quali le yessotossine, le pectenotossine e, dalla metà degli anni '90, gli azaspiracidi. Tuttavia, le tossine responsabili di DSP sono composti chimicamente distinti per effetti tossicologici, meccanismi d'azione e lesioni biochimiche;
  - *Neurotoxin Shellfish Poisoning* (NSP);
  - *Venerupin Shellfish Poisoning* (VSP);
  - *Ciguatera* o *Ciguatera Fish Poisoning* (CFP).

### La classificazione delle biotossine marine

Nel 2004 la comunità scientifica<sup>1</sup> ha ritenuto opportuno classificare le biotossine marine sulla base della loro struttura chimica in otto gruppi:

- azaspiracidi (AZAs);
- acido okadaico e dinofisistossine (OA e DTxs);
- pectenotossine (PTxs);
- yessotossine (YTxS);
- brevetossine (NSP- PBtXS);
- imine cicliche;
- acido domoico (DA);
- saxitossine (STxs).

### Le biotossine marine nei molluschi bivalvi

Di tutti i prodotti della pesca, i molluschi bivalvi, capaci di filtrare grandi volumi di acqua per la loro alimentazione, sono in grado, durante le fioriture di microalghe tossiche, di accumulare nelle 24 ore concentrazioni di tossine pericolose per la salute dei consumatori. Inoltre, la rapidità di commercializzazione di questi prodotti, che nel giro di 24 ore si possono trovare vivi sulla tavola del consumatore, ha indotto l'Unione europea a fornire all'autorità competente, attraverso provvedimenti normativi (direttive, regolamenti, raccomandazioni ecc.), strumenti di lavoro più incisivi e puntuali per tutelare la salute dei consumatori.

#### Limiti

Il regolamento CE 853/2004, che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale, al capitolo V "Norme sanitarie per i molluschi bivalvi vivi" fissa che i bivalvi vivi non devono contenere biotossine marine in quantità totali, misurate nel corpo intero o nelle parti consumabili separatamente, superiori ai seguenti limiti:

- tossine responsabili di PSP: 800 g/kg p.e.<sup>2</sup>;
- tossine responsabili di ASP: 20 mg/kg p.e.;
- acido okadaico, dinofisistossine e pectenotossine complessivamente: 160 g di equivalente OA/kg p.e.;
- yessotossine: 1 mg di equivalente YTx/kg p.e.;
- azaspiracidi: 160 g di equivalente AZA/kg p.e.

#### Dose acuta di riferimento

È stato stabilito, inoltre, che il consumo dei molluschi bivalvi<sup>3</sup> è considerato a carattere saltuario; conseguentemente, gli effetti dannosi che eventuali biotossine contenute nell'alimento hanno sulla salute umana sono da considerarsi come una tossicità acuta. In questa situazione, il parametro adatto da impiegare nella valutazione del rischio è la Dose acuta di riferimento (Dar).

La Dar è definita come "valutazione della quantità di una sostanza in un alimento, espressa normalmente in milligrammi per kg di peso corporeo (60 kg di p.c.), che può essere ingerita in un periodo di 24 ore o meno (un pasto) senza rischio apprezzabile per la salute del consumatore, in base a tutti i fatti conosciuti al tempo della valutazione".

### Stabilire la quantità di un alimento che può essere ingerita in 24 ore è fondamentale per valutare il rischio e per definire i limiti delle varie biotossine

Per la valutazione del rischio e per definire i limiti delle varie biotossine è importante stabilire la quantità di un alimento che può essere ingerita nelle 24 ore.

<sup>1</sup> Fao/Who/loc, Oslo (Norvegia), 27 settembre - 1° ottobre 2004.

<sup>2</sup> Per "p.e." si intende "parte edibile".

<sup>3</sup> Fao/Who/loc, *Expert consultation*, 2004.

In passato, il calcolo dei limiti si è basato su un consumo giornaliero di 100 g di p.e.. Recenti indagini, che hanno coinvolto i consumatori, hanno evidenziato che in un pasto i molluschi bivalvi ingeriti possono raggiungere anche i 380 g di p.e.. Tuttavia, il 97,5% della popolazione non consuma in un pasto o nelle 24 ore più di 250 g di p.e. di molluschi bivalvi.

Nel novembre 2007, l'Efsa ha proposto di utilizzare 400 g di p.e. come quantità di molluschi bivalvi, echinodermi, gasteropodi e tunicati che può essere ingerita nelle 24 ore.

### Il fattore di incertezza

Un altro elemento importante per la valutazione del rischio di una tossina è selezionare un Fattore d'incertezza (Fi) o di sicurezza per il consumatore, che deve essere applicato nel calcolo della Dar. Generalmente il Fi usato nella quantificazione del pericolo, ottenuto attraverso la sperimentazione animale, è pari a 100 ed è il prodotto di:

• un fattore di 10, che estrapola i dati dall'animale all'uomo, basandosi sul fatto che l'uomo può essere più sensibile dell'animale da esperimento;

- un altro fattore di 10, che tiene conto della sensibilità umana dovuto all'età, al sesso ecc..

Il compito di stabilire il Fi che deve essere applicato per la quantificazione del pericolo è del tossicologo. Il Fi è legato alla quantità di dati disponibili ottenuti dalla sperimentazione e dovrebbe portare ad una quantificazione del pericolo sulla base del Noael (*No observed adverse effect level*), cioè la concentrazione massima della tossina che non crea alcun effetto tossico nell'organismo trattato. Tuttavia, quando non è possibile individuare un Noael, si può determinare il Fi partendo dal Loael (*Lowest observed adverse effect level*), la quantità più bassa della tossina che crea effetti tossici nell'organismo trattato. In

# ECONORMA S.a.s.

**Sistemi di monitoraggio  
e telecontrollo della**

**TEMPERATURA**

**UMIDITA' RELATIVA %**

**SEGNALI DI PROCESSO**

**Sistemi Wireless**





**FT-110/LOG**



*Celle frigorifere,  
Trasporti refrigerati,  
congelatori,  
depositi, ecc.*





**ECONORMA S.a.s.**  
31020 SAN VENDEMIANO - TV - Via Olivera 52  
Tel. 0438.409049 Fax 0438.409036  
info@econorma.com www.econorma.com

questo caso il Noael può essere ottenuto calcolando 1/10 della dose del Loael. Si riporta, di seguito, una serie di tabelle che

schematizzano la valutazione del rischio associata a prodotti ittici contaminanti da: STXs, DA, OA, YTXs, AXAs, PTXs (vedi *tabelle 1-12*).

**Tabella 1**  
**Valutazione del rischio associato a prodotti ittici contaminati da STXs**

<b>DISTRIBUZIONE</b>	Le STXs sono state trovate in microalghe, molluschi bivalvi e in altri prodotti ittici in: Africa, Asia, Europa, Nord e Sud America, Oceania.
<b>ASSORBIMENTO, DISTRIBUZIONE, METABOLISMO, ESCREZIONE</b>	Nei gatti, la STX, iniettata endovena, si distribuisce in tutto il corpo. Scompare rapidamente nel sangue (nel plasma il tempo di dimezzamento è di circa 22 minuti). Nel corpo di cani e gatti la STX ha un tempo di dimezzamento di 12-18 ore. L'eliminazione principale della STX avviene attraverso le urine. Pochi sono i dati sul metabolismo umano della STX.
<b>TOSSICITÀ NEGLI ANIMALI (topo)</b>	La tossicità acuta (LD50) nel topo per via endovenosa è pari a 2,4-3,4 µg/kg p.c.; per via intraperitoneale è di 9-11,6 µg/kg p.c. e per via orale di 260-263 µg/kg p.c.
<b>TOSSICITÀ NELL'UOMO (per via orale)</b>	La sintomatologia imputabile alla tossina si manifesta dopo 5-30 minuti con formicolio delle labbra, paralisi facciali e, nei casi più gravi, con paralisi degli arti, blocco del diaframma, paralisi respiratoria e, in seguito, morte (dopo 2-12 ore dall'ingestione delle STXs). L'esposizione umana alla STX è stata stimata valutando una serie di casi che hanno coinvolto decine di persone di età variabile da 3 a 72 anni. La valutazione di questi avvenimenti ha consentito di stimare i sintomi della PSP nelle persone in leggeri, moderati e gravi. In caso di sintomatologia leggera, è stata valutata un'ingestione di 2-30 µg STX eq./kg p.c. Per le persone colpite dai casi più gravi di intossicazione, la quantità di tossine ingerite sono state calcolate in 10-300 µg STX eq./kg p.c. Gli esperti Fao/loc/Who, sulla base di diverse centinaia di intossicazioni umane, hanno calcolato un Loael di 2,0 µg STX eq./kg p.c. (120 µg STX eq./persona). Gli esperti Efsa (gruppo Contam), invece, hanno valutato il Loael in 1,5 µg STX eq./kg p.c. (90 µg STX eq./persona).
<b>DOSE ACUTA DI RIFERIMENTO</b>	Sulla base dei Loael di 2,0 (Fao/loc/Who) e 1,5 µg STX eq./kg p.c. (Efsa, gruppo Contam), utilizzando un fattore di incertezza pari a 3, la Dar è stata calcolata in 0,7 µg STX eq./kg p.c. (42 µg STX eq./persona) da Fao/loc/Who e in 0,5 µg STX eq./kg p.c. (30 µg STX eq./persona) da Efsa (gruppo Contam).

**Tabella 2**  
**Limiti guida di STXs in relazione alla parte edibile ingerita di prodotti ittici**

INGESTIONE	LIMITE GUIDA*		LIMITE (reg. CE 853/2004)
	Fao/loc/Who	Efsa (gruppo Contam)	
100 g	420 µg STX eq./kg p.e.	300 µg STX eq./kg p.e.	800 µg STX eq./kg p.e.
250 g	170 µg STX eq./kg p.e.	120 µg STX eq./kg p.e.	
400 g	105 µg STX eq./kg p.e.	75 µg STX eq./kg p.e.	

\* Calcolo dei limiti elaborati dall'autore, in base alle indicazioni Fao/loc/Who e Efsa (gruppo Contam).

**Tabella 3**  
**Valutazione del rischio associato a prodotti ittici contaminati da DA**

<b>DISTRIBUZIONE</b>	Il DA è stato rilevato in microalghe e molluschi bivalvi in: Asia, Europa, Nord e Sud America, Oceania.
<b>ASSORBIMENTO, DISTRIBUZIONE, METABOLISMO, ESCREZIONE</b>	Il DA è un amminoacido eccitatorio, simile al glutammato, all'aspartato e al kainato; interviene su alcuni recettori delle sinapsi (kainato), aumentando l'ingresso di ioni $Ca^{2+}$ nella cellula sino a condurla alla morte. La dose di DA assorbita è pari al 5-10% di quella ingerita. Il massimo assorbimento avviene attraverso il sangue. In condizioni normali la barriera ematoencefalica impedisce la penetrazione del DA nel cervello. Il DA non sembra essere metabolizzato e la sua eliminazione avviene prevalentemente attraverso le urine. Il tempo di dimezzamento della tossina (nelle scimmie) è di 20-140 minuti.
<b>MECCANISMO D'AZIONE</b>	Il DA si comporta come agonista sui recettori dell'acido glutammico, influenzando la trasmissione sinaptica; è considerato un amminoacido eccitatorio, un neurotrasmettitore e una neurotossina per il sistema nervoso centrale. Recenti ricerche hanno evidenziato che il DA si lega a due sottotipi di recettori dell'acido kainico, la cui azione si esercita a livello pre e post sinapsi.
<b>TOSSICITÀ NEGLI ANIMALI (topo)</b>	Dipende dalla specie e dall'età; non si osservano effetti di tossicità con dosi di DA < 0,5 mg/kg p.c.
<b>TOSSICITÀ NELL'UOMO (per via orale)</b>	Effetto acuto con disturbi gastrointestinali, diarrea, nausea, vomito, dolori addominali, perdita della memoria breve (60-110 mg di DA) e sintomi neurologici più gravi con dosi di 270-290 mg. Sulla base dei dati epidemiologici è stato indicato un Loael di 1 mg/kg p.c. (Fao/loc/Who) e di 0,9 mg/kg p.c. (Efsa, gruppo Contam).
<b>DOSE ACUTA DI RIFERIMENTO</b>	Al Loael di 1 mg DA/kg p.c. (Fao/loc/Who) è stato applicato un fattore di incertezza 10 (interspecie umana) per arrivare a una Dar di 0,1 mg DA/kg p.c. (6 mg DA/persona). Al Loael di 0,9 mg/kg p.c. (Efsa, gruppo Contam) è stato applicato un fattore di incertezza di 3 per passare al Noael (0,3 mg DA/kg p.c.). A questo Noael è stato applicato un altro fattore di incertezza intraspecie di 10, che ha portato a una Dar di 30 µg/kg p.c. (1,8 mg/persona di 60 kg).

**Tabella 4**  
**Limiti guida di DA in relazione alla parte edibile ingerita di prodotti ittici**

PARTE EDIBILE INGERITA	LIMITE GUIDA*		LIMITE (reg. CE 853/2004)
	Fao/loc/Who	Efsa (gruppo Contam)	
100 g	60 mg DA/kg p.e.	18 mg DA/kg p.e.	20 mg DA/kg p.e.
250 g	24 mg DA/kg p.e.	7,2 mg DA/kg p.e.	
400 g	15 mg DA/kg p.e.	4,5 mg DA/kg p.e.	

\* Calcolo dei limiti elaborati dall'autore, in base alle indicazioni Fao/loc/Who e Efsa (gruppo Contam).

**Tabella 5**  
**Valutazione del rischio associato a prodotti ittici contaminati da OA e DTXs**

<b>DISTRIBUZIONE</b>	L'OA è stato trovato in microalghe e molluschi bivalvi in: Asia, Europa, Nord e Sud America, Oceania.
<b>ASSORBIMENTO, DISTRIBUZIONE, METABOLISMO, ESCREZIONE</b>	L'OA è rapidamente assorbito e distribuito in tutto il corpo: contenuto intestinale, urine, feci, tessuti intestinali, polmone, fegato, stomaco e sangue.
<b>MECCANISMO D'AZIONE</b>	L'OA è un potente inibitore di proteina fosfatasi 1 e 2A (PP1 e PP2A), due delle quattro principali classi di enzimi (PP1, PP2A, PP2B, PP2C) che agiscono defosforilando i residui serina/treonina delle proteine nelle cellule eucariote. L'azione delle PP1 e PP2A rappresenta il 90% dell'attività delle proteine fosfatasi nella cellula; intervengono in molti processi cellulari quali: divisione cellulare, differenziazione cellulare, attività neuronale, contrazione muscolare, funzioni metaboliche.
<b>TOSSICITÀ NEGLI ANIMALI (topo)</b>	Per iniezione intraperitoneale: 200 µg/kg (OA), 160 µg/kg (DTX1), 250 µg/kg (DTX3). Per somministrazione orale la tossicità è inferiore di 3-6 volte rispetto a quella per iniezione intraperitoneale.
<b>TOSSICITÀ NELL'UOMO (per via orale)</b>	Effetto acuto con disturbi gastrointestinali, diarrea, nausea, vomito e dolori addominali sono stati evidenziati con un Loael di 1 µg OA eq./kg p.c. (Fao/loc/Who) ovvero 60 µg OA eq./persona. L'Efsa (gruppo Contam) ha calcolato un Loael di 0,8 µg OA eq./kg p.c. ovvero circa 50 µg di OA eq./persona.
<b>DOSE ACUTA DI RIFERIMENTO</b>	Al Loael di 1 µg OA/kg p.c. (Fao/loc/Who) è stato applicato un fattore di incertezza di 3 per estrapolare una Dar di 0,33 µg OA eq./kg p.c. (20 µg OA eq./persona). Al Loael di 0,8 µg OA eq./kg p.c. (Efsa, gruppo Contam) è stato applicato un fattore di incertezza pari a 3 per estrapolare un Noael che ha portato a calcolare una Dar di 0,3 µg OA eq./kg p.c. (18 µg OA eq./persona).

**Tabella 6**  
**Limiti guida di OA in relazione alla parte edibile ingerita di prodotti ittici**

PARTE EDIBILE INGERITA	LIMITE GUIDA*		LIMITE (reg. CE 853/2004)
	Fao/loc/Who	Efsa (gruppo Contam)	
100 g	200 µg OA eq./kg p.e.	18 µg OA eq./kg p.e.	160 µg OA eq./kg p.e.
250 g	80 µg OA eq./kg p.e.	7,2 µg OA eq./kg p.e.	
400 g	50 µg OA eq./kg p.e.	4,5 µg OA eq./kg p.e.	

\* Calcolo dei limiti elaborati dall'autore, in base alle indicazioni Fao/loc/Who e Efsa (gruppo Contam).

**Tabella 7**  
**Valutazione del rischio associato a prodotti ittici contaminati da YTXs**

<b>DISTRIBUZIONE</b>	Le YTXs sono state trovate in microalghe e molluschi bivalvi in: Australia, Canada, Giappone, Inghilterra, Italia, Spagna, Nuova Zelanda, Norvegia.
<b>ASSORBIMENTO, DISTRIBUZIONE, METABOLISMO, ESCREZIONE</b>	Non ci sono dati per quanto riguarda l'assorbimento, la distribuzione, il metabolismo e l'escrezione. L'assorbimento delle YTXs nel tratto gastrointestinale è molto limitato. Non sono disponibili dati sul dettaglio del meccanismo o dei meccanismi dell'azione tossica delle YTXs. La YTX interviene sull'omeostasi di $Ca^{2+}$ nella cellula e attiva le fosfodiesterasi (PDE) che controllano l'attività dei cAMP e cGMP.
<b>MECCANISMO D'AZIONE</b>	Il meccanismo d'azione della YTX è stato oggetto di molti studi, ma non è stato ancora completamente chiarito. Recenti studi <i>in vitro</i> hanno dimostrato che la YTX altera il sistema di degradazione delle proteine, provocando l'accumulo di un frammento di 100 kDa della proteina di adesione E-caderina (ECRA 100) nelle cellule epiteliali di carcinoma mammario (MCF-7). Quest'azione è indotta a basse concentrazioni di YTX ( $10^{-10}$ - $10^{-9}$ M) e non agisce sulla rottura di E-caderina, ma interferisce sui normali processi di endocitosi dei frammenti di proteine per una loro completa degradazione a seguito della fase proteolitica.
<b>TOSSICITÀ NEGLI ANIMALI (topo)</b>	Per iniezione intraperitoneale, 7 dei 9 analoghi della YTX mostrano una tossicità ( $LD_{50}$ ) che varia da 100 a 750 $\mu\text{g/kg p.c.}$ La tossicità per via orale è notevolmente inferiore. La somministrazione per via orale di 5 mg/kg p.c., per un breve periodo di tempo, non ha evidenziato effetti tossici. Questo dato è stato utilizzato dall'Efsa (gruppo Contam) e da Fao/loc/Who come Noel.
<b>TOSSICITÀ NELL'UOMO (per via orale)</b>	Non sono mai stati riportati casi di intossicazione ascrivibili alle YTXs.
<b>DOSE ACUTA DI RIFERIMENTO</b>	Fao/loc/Who, sulla base del Noel di 5 mg/kg p.c., applica un fattore di incertezza di 100 per arrivare a una Dar di 50 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$ (3 mg di YTX eq./persona). Efsa (gruppo Contam), sulla base del Noel di 5 mg/kg p.c. applica, invece, un fattore di incertezza di 100, più un altro fattore di incertezza di 2, che porta a una Dar di 25 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$ (1,5 mg/persona).

**Tabella 8**  
**Limiti guida di YTXs in relazione alla parte edibile assunta**

PARTE EDIBILE INGERITA	LIMITE GUIDA*		LIMITE (reg. CE 853/2004)
	Fao/loc/Who	Efsa (gruppo Contam)	
100 g	30 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$	15 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$	1 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$
250 g	12 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$	6 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$	
400 g	8 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$	3,75 $\mu\text{g YTX eq./kg p.c.}$	

\* Calcolo dei limiti elaborati dall'autore, in base alle indicazioni Fao/loc/Who e Efsa (gruppo Contam).

**Tabella 9**  
**Valutazione del rischio associato a molluschi bivalvi contaminati da AZAs**

<b>DISTRIBUZIONE</b>	Gli AZAs sono stati trovati in molluschi bivalvi in: Irlanda, Regno Unito, Danimarca, Norvegia, Svezia, Spagna Francia, Portogallo. La microalga produttrice della tossina è stata identificata in una dinoficea ( <i>Azadinium sinosum</i> ).
<b>ASSORBIMENTO, DISTRIBUZIONE, METABOLISMO, ESCREZIONE</b>	Nonostante gli AZAs siano in grado di provocare gravi danni nell'uomo, il loro metabolismo è poco conosciuto.
<b>MECCANISMO D'AZIONE</b>	L'azione di AZA1 è evidenziata da cambiamenti morfologici della cellula, che coinvolge la F actina del citoscheletro e alcuni organelli cellulari. L'azione di AZA1 mostra, in linfociti umani, un aumento di ioni $Ca^{2+}$ citosolico di circa il 50% rispetto ai livelli normali di base. Alcune indagini, inoltre, sembrano mostrare il coinvolgimento di talune proteine di membrana come le claudine e le caderine.
<b>TOSSICITÀ NEGLI ANIMALI (topo)</b>	L'AZA1 provoca gravi danni ad alcuni organi quali: fegato, polmone, pancreas, timo, milza (linfociti T e B), tratto digestivo. L'AZA1, somministrato con sondino gastrico nel topo, alla concentrazione di 250-500 $\mu\text{g/kg}$ p.c., causa alcune morti e seri danni gastrointestinali, polmonari ed epatici. Non ci sono dati di tossicità per via orale per gli AZAs diversi da AZA1. Per iniezione intraperitoneale la tossicità è: $AZA2 \text{ e } AZA3 > AZA1 > AZA4 \text{ e } AZA5$ .
<b>TOSSICITÀ NELL'UOMO (per via orale)</b>	Effetto acuto: disturbi gastrointestinali. Fao/loc/Who, sulla base dei dati di tossicità umana disponibili, propongono un Loael compreso fra 23 $\mu\text{g}$ e 86 $\mu\text{g/persona}$ . Nel 2001, la Dg Sanco della Commissione europea ha proposto un Loael compreso tra 0,38 e 1,43 $\mu\text{g/kg}$ p.c. Dati Efsa (gruppo Contam) indicano, infine, un Loael di 113 $\mu\text{g/persona}$ (60 kg), 1,9 $\mu\text{g}$ di AZA1 eq./kg p.c.
<b>DOSE ACUTA DI RIFERIMENTO</b>	Sulla base di un Loael calcolato da Fao/loc/Who di 23 $\mu\text{g}$ di AZA1/persona e applicando un fattore di incertezza di 10, si ottiene una Dar di 0,04 $\mu\text{g}$ di AZA1/kg p.c. (2,4 $\mu\text{g}$ di AZA1/persona). Nel 2001, esperti della Dg Sanco della Commissione europea, sulla base del Loael di 0,38 $\mu\text{g}$ di AZA1/kg p.c., applicando un fattore di incertezza di 3, propongono una Dar di 0,127 AZA1/kg p.c. (7,62 $\mu\text{g}$ di AZA1/persona). Gli esperti dell'Efsa (gruppo Contam), sulla base del Loael di 113 $\mu\text{g/persona}$ , hanno estrapolato un Noael applicando un fattore di incertezza di 3 e un ulteriore fattore di incertezza di 3 dal Noael per arrivare a una Dar di 0,2 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c. (12 $\mu\text{g/persona}$ ).

**Tabella 10**  
**Limiti guida di AZAs in relazione alla parte edibile assunta**

PARTE EDIBILE INGERITA	LIMITE GUIDA*			LIMITE (reg. CE 853/2004)
	Fao/loc/Who	DG Sanco	Efsa (gruppo Contam)	
100 g	24 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	80 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	120 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	160 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.
250 g	9,6 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	32 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	48 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	
400 g	6,3 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	19 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	30 $\mu\text{g}$ AZA1 eq./kg p.c.	

\* Calcolo dei limiti elaborati dall'autore, in base alle indicazioni Fao/loc/Who e Efsa (gruppo Contam).

**Tabella 11**  
Valutazione del rischio associato a prodotti ittici contaminati da PTXs

<b>DISTRIBUZIONE</b>	Le PTXs sono state trovate in microalghe e molluschi bivalvi in: Italia, Norvegia, Portogallo, Spagna, Australia, Giappone, Nuova Zelanda.
<b>ASSORBIMENTO, DISTRIBUZIONE, METABOLISMO, ESCREZIONE</b>	Studi di tossicità sul topo di PTX2SA somministrate per via orale hanno evidenziato che sono scarsamente assorbite; la loro distribuzione nell'organismo è praticamente concentrata nel tratto gastrointestinale e sono rilevate in tracce in fegato, sangue e urine. La loro presenza nelle feci indica che l'eliminazione segue, come avviene per altre tossine, la via biliare.
<b>MECCANISMO D'AZIONE</b>	Il meccanismo d'azione delle PTXs non è ancora completamente chiaro; tuttavia, alcune PTXs hanno dimostrato in vitro (linee di cellule cancerogene) una tossicità ed effetti importanti sul citoscheletro, che coinvolgono microtubuli e actina. Sulla base di questa evidente tossicità, si stanno conducendo altri studi per investigare in modo più approfondito gli effetti delle PTXs.
<b>TOSSICITÀ NEGLI ANIMALI (topo)</b>	Molte PTXs, comprese PTX1, PTX2, PTX3, PTX4, PTX6 e PTX11, sono tossiche per gli animali per iniezione intraperitoneale; il fegato è l'organo più colpito. Per via orale, invece, sono molto meno tossiche. In uno studio di ricercatori neozelandesi in cui topi sono stati alimentati oralmente con PTX2 o PTX11 alla dose di 5.000 µg/kg p.c. non si è osservata diarrea o qualunque altro effetto tossico. Tuttavia, in recenti studi giapponesi, PTX2 pura, somministrata per via orale con sonda gastrica a 2.000 µg/kg p.c., ha causato diarrea nei topi. I cambiamenti istologici sono stati osservati nello stomaco, nei polmoni, nel fegato, nei reni e negli intestini. L'accumulo di fluidi nel tratto gastrointestinale, inoltre, è stato registrato ai livelli più bassi di PTX2. Il Loel è stato calcolato in 250 µg/kg p.c.
<b>TOSSICITÀ NELL'UOMO (per via orale)</b>	In Australia alcuni casi di intossicazione umana (disturbi gastrointestinali) sono stati inizialmente attribuiti alle PTXs e, in un secondo tempo, agli esteri dell'acido okadaico (DTX3).
<b>DOSE ACUTA DI RIFERIMENTO</b>	Sulla base del Loel di 250 µg/kg di p.c., è stato applicato un fattore di incertezza di 3 per ottenere un Noel di 80 µg/kg di p.c. A questo Noel è stato applicato un ulteriore fattore di incertezza di 100 per determinare una Dar di 0,8 µg/kg p.c. (48 µg/persona).

**Tabella 12**  
Limiti guida di PTXs in relazione alla parte edibile ingerita di prodotti ittici

		<b>LIMITE GUIDA*</b>	<b>LIMITE (reg. CE 853/2004)</b>
	100 g	480 µg PTX/kg p.e.	160 µg PTX/kg p.e.
		192 µg PTX/kg p.e.	
		120 µg PTX/kg p.e.	

\* Calcolo dei limiti elaborati dall'autore, in base alle indicazioni Fao/loc/Who e Efsa (gruppo Contam).

**Tabella 13**  
**Limiti guida di PTXs in relazione alla parte edibile ingerita di prodotti ittici**

PARTE EDIBILE INGERITA	LIMITE GUIDA*	LIMITE (reg. CE 853/2004)
100 g	1.800 µg PTX/kg p.e.	160 µg PTX/kg p.e.
250 g	720 µg PTX/kg p.e.	
400 g	474 µg PTX/kg p.e.	
*Calcolo dei limiti guida elaborati dall'autore, in base indicazioni degli esperti del 1° <i>Working group on toxicology</i> (Dg Sanco, Cesenatico, 24-25 ottobre 2005).		

Nel 2005, i partecipanti al 1° *Working group on toxicology*, svoltosi a Cesenatico il 24-25 ottobre e organizzato dalla Direzione generale della Salute e della Tutela del consumatore (Dg Sanco) della Commissione europea, sono stati chiamati a discutere i dati tossicologici, i metodi analitici, lo stato giuridico e i limiti normativi delle tossine lipofile e, per quanto riguarda l'analisi del rischio delle pectenotossine, avevano concluso quanto schematizzato in *tabella 13*; inoltre, sulla base del Noael di 300 µg/kg di p.c., è stato applicato un fattore di incertezza di 100 per ottenere una Dar di 3 µg PTX eq./kg p.c. (180 µg/persona).

La differente valutazione dei limiti guida riportati, dovuta a una diversa stima del Noael, dimostra come non sia sempre facile valutare i dati di tossicità ricavati da una sperimentazione animale o da un'intossicazione umana. Le tecniche utilizzate per la quantificazione della tossina, test biologici o analisi chimiche giocano un ruolo molto importante nell'analisi della valutazione del rischio. L'analisi chimica ci consente di specificare e quantificare la presenza delle tossine in un prodotto ittico e questo è fondamentale per formulare una valutazione del rischio più corretta.

