

LEGGI ED ALTRI ATTI NORMATIVI

DECRETO LEGISLATIVO 27 aprile 2004, n. 133.

Attuazione della direttiva 2002/70/CE per la determinazione dei livelli di diossine e PCB diossina-simili nei mangimi.

IL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA

Visti gli articoli 76 e 87 della Costituzione;

Visto l'articolo 117 della Costituzione;

Vista la legge 3 febbraio 2003, n. 14, ed in particolare l'articolo 1 e l'allegato B;

Vista la direttiva 2002/70/CE della Commissione, del 26 luglio 2002, che stabilisce i requisiti per la determinazione dei livelli di diossine e PCB diossina-simili nei mangimi;

Vista la legge 15 febbraio 1963, n. 281, e successive modificazioni;

Visto il decreto ministeriale in data 20 aprile 1978, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 165 del 15 giugno 1978;

Visto il decreto del Ministro della sanità 11 maggio 1998, n. 241;

Visto il decreto del Ministro della sanità in data 21 maggio 1999, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 206 del 2 settembre 1999;

Visto il decreto del Ministro della salute 23 dicembre 2002, n. 317;

Vista la preliminare deliberazione del Consiglio dei Ministri, adottata nella riunione del 9 gennaio 2004;

Considerato che la Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano non ha espresso il prescritto parere nel termine di cui all'articolo 2, comma 3, del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281;

Acquisiti i pareri delle competenti Commissioni della Camera dei deputati e del Senato della Repubblica;

Vista la deliberazione del Consiglio dei Ministri, adottata nella riunione del 23 aprile 2004;

Sulla proposta del Ministro per le politiche comunitarie e del Ministro della salute, di concerto con i Ministri degli affari esteri, della giustizia, dell'economia e delle finanze, delle politiche agricole e forestali, dell'ambiente e della tutela del territorio e per gli affari regionali;

E M A N A

il seguente decreto legislativo:

Art. 1.

1. I campioni destinati al controllo ufficiale dei livelli di diossina e di furani nonché alla determinazione dei livelli di PCB diossina-simili nei mangimi sono prelevati secondo i metodi descritti nell'allegato I.

Art. 2.

1. La preparazione dei campioni ed i metodi d'analisi per il controllo ufficiale dei livelli di diossina e di furani,

nonché la determinazione dei livelli di PCB diossina simili nei mangimi sono conformi ai criteri descritti nell'allegato II.

Art. 3.

1. I laboratori che effettuano il controllo ufficiale dei livelli di diossine e dei livelli di PCB diossina simili nei mangimi devono essere accreditati in base alla norma ISO/IEC/17025:1999 da un organismo riconosciuto in conformità alla Guida ISO 58, che certifichi l'applicazione della garanzia della qualità dei metodi di analisi applicati.

Art. 4.

1. In relazione a quanto disposto dall'articolo 117, quinto comma, della Costituzione, le norme del presente decreto legislativo, afferenti a materia di competenza legislativa delle regioni e delle province autonome di Trento e di Bolzano che non abbiano ancora provveduto al recepimento della direttiva 2002/70/CE, si applicano fino alla data di entrata in vigore della normativa di attuazione di ciascuna regione e provincia autonoma, adottata nel rispetto dei vincoli derivanti dall'ordinamento comunitario e dei principi fondamentali desumibili dal presente decreto legislativo.

Il presente decreto, munito del sigillo dello Stato, sarà inserito nella Raccolta ufficiale degli atti normativi della Repubblica italiana. È fatto obbligo a chiunque spetti di osservarlo e farlo osservare.

Dato a Roma, addì 27 aprile 2004

CIAMPI

BERLUSCONI, Presidente del Consiglio dei Ministri

BUTTIGLIONE, Ministro per le politiche comunitarie

SIRCHIA, Ministro della salute

FRATTINI, Ministro degli affari esteri

CASTELLI, Ministro della giustizia

TREMONTI, Ministro dell'economia e delle finanze

ALEMANNI, Ministro delle politiche agricole e forestali

MATTEOLI, Ministro dell'ambiente e della tutela del territorio

LA LOGGIA, Ministro degli affari regionali

Visto, il Guardasigilli: CASTELLI

ALLEGATO I
(previsto dall'art. 1, comma 1)

METODI DI CAMPIONAMENTO PER IL CONTROLLO UFFICIALE DEI LIVELLI DI
DIOSSINE (PCDD/PCDF) E LA DETERMINAZIONE DI PCB DIOSSINA-SIMILI IN
TALUNI MANGIMI

1. Oggetto e campo d'applicazione

I campioni destinati al controllo ufficiale dei livelli del contenuto di diossine (PCDD/PCDF), nonché alla determinazione del contenuto di PCB diossina-simili (1) nei mangimi, sono prelevati secondo le disposizioni del decreto ministeriale 20 aprile 1978, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 165 del 15 giugno 1978. I campioni globali così ottenuti sono considerati rappresentativi delle partite o sottopartite da cui sono prelevati. Il rispetto dei livelli massimi fissati dal decreto del Ministro della salute 23 dicembre 2002, n. 317, è stabilito in base ai livelli determinati nei campioni di laboratorio.

2. Conformità della partita o della sottopartita alle specifiche

Il laboratorio di controllo procede a una doppia analisi del campione di laboratorio e calcola la media dei risultati, qualora il risultato ottenuto nella prima analisi ecceda il livello massimo o sia inferiore al livello massimo di un valore che non superi il 20 %. La partita è accettata se il risultato della prima analisi è al di sotto del livello massimo di un valore superiore al 20 % o, dove la doppia analisi è necessaria, se la media è conforme al corrispondente livello massimo indicato dal decreto del Ministro della salute 23 dicembre 2002, n. 317.

(1) Tabella TEF per la valutazione dei rischi umani stabiliti dall'OMS sulla base delle conclusioni dell'incontro di Stoccolma del 15-18 giugno 1997 [Van den Berg et al., 1998, "Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife", Environmental Health Perspectives, vol. 106, n. 12 (December 1998), pp. 775-792].

Tabella TEF

| Congenere | Valore TEF |
|--|------------|
| Policlorodibenzodiossine (PCDD) | |
| 2,3,7,8-TCDD | 1 |
| 1,2,3,7,8-PeCDD | 1 |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDD | 0,1 |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDD | 0,1 |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDD | 0,1 |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD | 0,01 |
| OCDD | 0,0001 |

Dibenzofurani (PCDF)

| | |
|---------------------|---------|
| | 1 |
| 2,3,7,8-TCDF | 10,1 |
| 1,2,3,7,8-PeCDF | 10,05 |
| 2,3,4,7,8-PeCDF | 10,5 |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDF | 10,1 |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDF | 10,1 |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDF | 10,1 |
| 1,3,4,6,7,8-HxCDF | 10,1 |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF | 10,01 |
| 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF | 10,01 |
| OCDF | 10,0001 |

PCB diossina-simili Non orto PCB + Mono orto PCB

Non orto PCB

| | |
|---------|---------|
| PCB 77 | 10,0001 |
| PCB 81 | 10,0001 |
| PCB 126 | 10,1 |
| PCB 169 | 10,01 |

Mono orto PCB

| | |
|---------|----------|
| PCB 105 | 10,0001 |
| PCB 114 | 10,0005 |
| PCB 118 | 10,0001 |
| PCB 123 | 10,0001 |
| PCB 156 | 10,0005 |
| PCB 157 | 10,0005 |
| PCB 167 | 10,00001 |
| PCB 189 | 10,0001 |

Abbreviazioni: "T" = tetra; "Pe" = penta; "Hx" = esa; "Hp" = epta; "O" = octa; "CDD" = clorodibenzodiossina; "DF" = clorodibenzofurano; "CB" = clorobifenile.

ALLEGATO II
(previsto dall'art. 2, comma 1)

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI E SPECIFICHE PER I METODI D'ANALISI IMPIEGATI
NEL CONTROLLO UFFICIALE DEI LIVELLI DI DIOSSINE (PCDD/PCDF) E NELLA
DETERMINAZIONE DI PCB DIOSSINA-SIMILI IN TALUNI MANGIMI

1. Finalità e campo d'applicazione

Queste specifiche si applicano all'analisi di materie prime e mangimi volta a determinare la presenza di diossine [policlorodibenzodiossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF)] e difenili policlorurati diossina-simili (PCB).

Il controllo della presenza di diossine nei mangimi può essere effettuato mediante una strategia che preveda un metodo di screening per selezionare i campioni con livelli di diossine e di PCB diossina-simili superiori al livello massimo consentito o inferiori di un valore al di sotto del 30-40 %. Occorre poi determinare/confermare la concentrazione di diossine nei campioni con livelli significativi tramite un metodo di conferma.

I metodi di screening sono impiegati per rilevare la presenza di diossine e PCB diossina-simili ai livelli massimi consentiti. Essi sono dotati di una grande capacità di trattamento di campioni, il che consente di passare al vaglio un'elevata quantità di campioni per ricercare quelli che potrebbero rivelarsi positivi. Questi metodi sono specialmente concepiti in modo da evitare i falsi risultati negativi.

I metodi di conferma forniscono informazioni complete o complementari che consentono di individuare e quantificare in maniera inequivocabile le diossine e i PCB diossina-simili al livello massimo consentito.

2. Contesto

Poiché i campioni ambientali e biologici (inclusi i campioni di materie prime/mangimi) generalmente contengono miscele complesse di diversi congeneri di diossine, per agevolare la valutazione dei rischi è stato elaborato il concetto di "fattori di tossicità equivalente" (TEF). I TEF consentono di esprimere concentrazioni di miscele di PCDD e PCDF sostituiti alle posizioni 2,3,7,8 e, di recente, alcune forme di PCB non orto e orto clorosostituiti aventi proprietà simili a quelle delle diossine in equivalenti tossici (TE) di 2,3,7,8-TCDD (cfr. nota 1 dell'allegato I).

Le concentrazioni delle singole sostanze in un dato campione vengono dapprima moltiplicate per il corrispondente TEF e poi sommate per ottenere la concentrazione totale dei composti diossina-simili espressa in TE.

Per il calcolo del "limite superiore", si suppone che il contributo al TE di ogni congenere non quantificato sia uguale alla soglia di determinazione.

Per il calcolo del "limite inferiore", si suppone che il contributo al TE di ogni congenere non quantificato sia uguale a zero.

Per il calcolo del "valore intermedio", si suppone che il contributo al TE di ogni congenere non quantificato sia uguale alla metà della soglia di quantificazione.

3. Requisiti da applicare nella preparazione dei campioni per la garanzia della qualità.

Si applicano le disposizioni generali sulla preparazione dei campioni destinati all'analisi indicate nell'allegato, punto 1, del decreto ministeriale in data 28 maggio 1982, pubblicato nel supplemento ordinario n. 6 alla Gazzetta Ufficiale n. 265 del 25 settembre 1982.

Occorre inoltre che siano rispettate le seguenti prescrizioni:

- i campioni devono essere conservati e trasportati in appositi contenitori di vetro, alluminio, polipropilene o polietilene, dopo avere rimosso ogni traccia di polvere di carta dal contenitore. Gli strumenti in vetro devono essere risciacquati con solventi previamente sottoposti a un controllo volto a determinare la presenza di diossine;
- occorre fare un'analisi in bianco, ovvero effettuare l'intera procedura analitica senza il campione;
- il peso del campione utilizzato per l'estrazione deve essere tale da rispondere ai requisiti relativi alla sensibilità del metodo.

4. Requisiti applicabili ai laboratori

- I laboratori devono dimostrare la validità del metodo nell'intervallo di tolleranza del livello considerato, ad esempio, 0,5x, 1x e 2x il livello considerato, con un coefficiente di variazione accettabile per analisi ripetute. Per ulteriori informazioni sui criteri di validità, si veda il punto 5.
- Il limite di quantificazione per un metodo di conferma non deve essere superiore a un quinto del livello massimo consentito, per garantire coefficienti di variazione accettabili nell'intervallo di cui al punto precedente;
- Si devono costantemente effettuare controlli in bianco ed esperimenti o analisi dei campioni di controllo con l'aggiunta di indicatori (di preferenza, se disponibile, materiale di riferimento certificato), quali misure interne di garanzia della qualità.
- La riuscita partecipazione a studi condotti in collaborazione con altri laboratori che valutano la competenza del laboratorio è il modo migliore per dimostrarne la perizia nell'ambito di analisi specifiche. Tuttavia, il buon esito della partecipazione a studi condotti con altri laboratori, ad esempio, su campioni di terreno o di acque residue, non dimostra necessariamente che il laboratorio sia altrettanto competente a trattare campioni di prodotti alimentari o mangimi, caratterizzati da livelli di contaminazione minori. È pertanto requisito imprescindibile la partecipazione regolare a studi condotti in collaborazione con altri laboratori sulla determinazione di diossina e di PCB diossina-simili nelle corrispondenti matrici di prodotti alimentari/mangimi.

5. Requisiti applicabili alle procedure d'analisi per le diossine e i PCB diossina-simili

Requisiti di base di validità delle procedure d'analisi:

- Elevata sensibilità e limiti di rilevabilità bassi. Per quanto concerne le PCDD e i PCDF, le quantità rilevabili devono essere dell'ordine del picogrammo di TE (10-12 g), data l'estrema tossicità di alcuni di questi composti. È noto che i PCB si presentano in quantità più elevate rispetto alle PCDD e ai PCDF. Per quanto concerne la maggior parte dei congeneri di PCB, una sensibilità dell'ordine del nanogrammo (10-9 g) è sufficiente. Tuttavia, per la determinazione dei congeneri più tossici di PCB diossina-simili (in particolare i congeneri non orto sostituiti) si deve ottenere la stessa sensibilità delle PCDD e dei PCDF.

- Alta selettività (specificità). Occorre distinguere le PCDD, i PCDF e i PCB diossina-simili da una moltitudine di altri composti che, estratti simultaneamente dal campione e suscettibili d'interferire, sono presenti in concentrazioni di molto superiori a quelle degli analiti da rilevare. Per quanto concerne i metodi di gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS), è necessario distinguere tra vari congeneri, in particolare tra quelli tossici (ad esempio, i diciassette PCDD e PCDF sostituiti alle posizioni 2,3,7,8 e i PCB diossina-simili) e altri congeneri. Mediante biotest dovrebbe essere possibile determinare selettivamente i valori di TE, quale somma di PCDD, PCDF e PCB diossina-simili.

- Estrema accuratezza (esattezza e precisione). La determinazione deve fornire una stima valida ed affidabile della concentrazione reale presente in un campione. È necessario porre estrema cura (accuratezza della misurazione: grado di concordanza tra il risultato di una misurazione e il valore reale o assegnato del misurando) per evitare che i risultati dell'analisi di un campione siano respinti a causa della scarsa affidabilità della stima dei TE. L'accuratezza è la risultante di esattezza (differenza tra il valore medio misurato per un analita in un materiale certificato, espressa in percentuale di tale valore) e precisione (la precisione viene generalmente calcolata sotto forma di scarto-tipo; essa include la ripetibilità e la riproducibilità e indica il grado di concordanza tra i risultati ottenuti applicando ripetutamente la procedura sperimentale in determinate condizioni).

I metodi di screening possono comprendere biotest e metodi GC/MS, mentre i metodi di conferma sono costituiti dalla gascromatografia ad alta risoluzione e dalla spettrometria di massa ad alta risoluzione (HRGC/HRMS). Si devono osservare i seguenti criteri per il valore totale in TE:

| | Metodi di screening | Metodi di conferma |
|---------------------------------|---------------------|--------------------|
| Percentuale di falsi negativi | < 1 % | |
| Esattezza | | - 20 % a + 20 % |
| CV (coefficiente di variazione) | < 30 % | < 15 % |

6. Requisiti specifici applicabili ai metodi GC/MS a fini di screening o di conferma

- Quale primo passo dell'analisi per convalidarne la procedura, da effettuare, ad esempio, prima dell'estrazione, occorre aggiungere standard interni di PCDD/F clorosostituiti alle posizioni 2,3,7,8 e marcati con ^{13}C (e standard interni di PCB diossina-simile marcati con ^{13}C , se si devono determinare PCB diossina-simili). Va aggiunto almeno un congenere per ciascun gruppo omologo di PCDD/F da tetra a octaclorati (e almeno un congenere per ciascun gruppo omologo di PCB diossina-simile, se si devono determinare PCB diossina-simili) (in alternativa, è possibile aggiungere almeno un congenere per ciascuna funzione di registrazione di ioni selezionati tramite spettrografia di massa utilizzata per il controllo di PCDD/F e PCB diossina-simile). Si consiglia vivamente, soprattutto per i metodi di conferma, di utilizzare l'insieme dei diciassette standard interni di PCDD/F clorosostituiti alle posizioni 2,3,7,8 marcati con ^{13}C , nonché la totalità dei dodici standard interni di PCB diossina-simile marcati con ^{13}C (nel caso si debbano determinare PCB diossina-simili).

Vanno inoltre determinati i fattori di risposta relativa per quei congeneri ai quali non è stato aggiunto alcun analogo marcato con ^{13}C , utilizzando soluzioni di taratura adeguate.

- Per i mangimi d'origine vegetale e per i mangimi d'origine animale con un contenuto di grasso inferiore al 10 %, l'aggiunta di standard interni prima dell'estrazione è obbligatoria. Per i mangimi d'origine animale con un contenuto di grasso superiore al 10 %, gli standard interni possono essere aggiunti o prima dell'estrazione o dopo l'estrazione del grasso. Occorre convalidare adeguatamente l'efficacia dell'estrazione, a seconda della fase in cui sono stati introdotti gli standard interni e del modo in cui i risultati sono riportati sulla base di un prodotto o del grasso.

- Prima dell'analisi GC/MS, occorre aggiungere 1 o 2 standard di recupero (surrogato).

- È necessario effettuare il controllo del recupero. Per i metodi di conferma, i recuperi dei singoli standard interni devono essere compresi tra il 60 % e il 120 %. Recuperi inferiori o superiori per singoli congeneri, in particolare alcune dibenzodiossine e alcuni dibenzofurani epta e octaclorati, sono accettabili, purché il loro contributo al valore TE non superi il 10 % del valore totale TE (tenendo conto unicamente di PCDD/F). Per quanto concerne i metodi di screening, i recuperi devono essere compresi tra il 30 % e il 140 %.

- È opportuno separare le diossine dai composti clorurati interferenti, quali i PCB e gli eteri clorurati di difenile, ricorrendo ad adeguate tecniche cromatografiche (di preferenza tramite una colonna di florisil, d'allumina e/o di carbone).

- La separazione gascromatografica degli isomeri deve essere adeguata (overlapping < 25 % tra 1,2,3,4,7,8-HxCDD e 1,2,3,6,7 8-HxCDD).

- Per la determinazione, si consiglia di fare riferimento al metodo "EPA Method 1613, Revision B: Tetra- through Octachlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC-HRMS", o ad un altro metodo con criteri di rendimento equivalenti.

- La differenza tra il livello massimo e il livello minimo non deve essere superiore al 20 % per i mangimi con una contaminazione da diossina pari o superiore al livello massimo. Per i mangimi che presentano livelli di contaminazione di molto inferiori al livello massimo, la differenza può essere dell'ordine del 25-40 %.

7. Metodi d'analisi di screening

7.1. Introduzione

Il metodo di screening consente di applicare vari approcci analitici: un approccio puramente di screening e un approccio quantitativo.

Approccio di screening

La risposta dei campioni è confrontata con quella di un campione di riferimento al livello considerato. I campioni la cui risposta è inferiore a quella del campione di riferimento sono considerati negativi, mentre quelli con risposta superiore sono ritenuti positivi. Requisiti:

- In ogni serie di prove si devono includere un campione di riferimento e uno in bianco, estratti e analizzati allo stesso tempo e alle medesime condizioni. Il campione di riferimento deve presentare una risposta nettamente superiore a quella del bianco.

- Si devono includere campioni di riferimento supplementari con concentrazione pari a 0,5x e 2x il livello considerato, per dimostrare l'efficacia del test nell'intervallo considerato per il controllo del livello considerato.

- Qualora si analizzino altre matrici, occorre dimostrare la validità dei campioni di riferimento, utilizzando di preferenza campioni il cui livello di TE, stabilito tramite HRGC/HRMS, sia equivalente a quello del campione di riferimento o di un bianco arricchito.

- Poiché nei biotest non si possono utilizzare standard interni, i test di ripetibilità sono estremamente importanti per ottenere informazioni sullo scarto-tipo nell'ambito di una serie di test. Il coefficiente di variazione deve essere inferiore al 30 %.

- Per quanto concerne i biotest, occorre definire quali sono i composti-bersaglio, le potenziali interferenze e il valore massimo tollerato per il bianco.

Approccio quantitativo

L'approccio quantitativo comprende obbligatoriamente una serie di diluizioni-tipo, un processo di purificazione e di misurazione doppio o triplo, nonché analisi in bianco e controlli di recupero. Il risultato può essere espresso in TE, dando per scontato che i composti responsabili del segnale soddisfano il principio di TE. A tale fine, si può impiegare la TCDD (o una miscela-tipo di diossine/furani) per elaborare una curva di taratura che consenta di calcolare il livello di TE nell'estratto e di conseguenza, nel campione. Tale risultato è poi corretto con il livello di TE calcolato per un campione in

bianco (per tenere conto di impurezze derivanti dai solventi e dalle sostanze chimiche utilizzate) e per il recupero (quest'ultima quantità è calcolata a partire dal livello di TE in un campione di controllo qualità la cui concentrazione è equivalente a quella del livello massimo considerato). È fondamentale tenere conto che una parte della perdita apparente del recupero può essere dovuta agli effetti della matrice e/o alle differenze tra i valori dei TEF nei biotest e i valori dei TEF ufficiali stabiliti dall'OMS.

7.2. Requisiti per i metodi d'analisi utilizzati per lo screening

- Lo screening può essere effettuato tramite metodi d'analisi GC/MS e biotest. Ai metodi GC/MS si applicano le prescrizioni stabilite al punto 6. Prescrizioni specifiche sono stabilite al punto 7.3 per i biotest cellulari, e al punto 7.4 per i biotest realizzati con kit.

- Si devono fornire informazioni sul numero di risultati falsi positivi e falsi negativi di un'ampia serie di campioni al di sopra e al di sotto dei livelli massimi o dei valori delle soglie d'intervento, raffrontati al contenuto di TE determinato tramite metodo analitico di conferma. La percentuale reale di falsi negativi deve essere inferiore all'1 %. Affinché il metodo di screening risulti vantaggioso, la percentuale di campioni falsi positivi deve essere sufficientemente bassa.

- I risultati positivi devono essere sempre convalidati tramite un metodo analitico di conferma (HRGC/HRMS). I campioni corrispondenti a una vasta gamma di TE devono inoltre essere confermati tramite HRGC/HRMS (circa 2-10 % dei campioni negativi). Si devono fornire dati sulle corrispondenze tra i risultati dei biotest e quelli della HRGC/HRMS.

7.3. Requisiti specifici per i biotest cellulari

- Quando si effettua un biotest, si deve utilizzare in ogni prova una serie di concentrazioni di riferimento di TCDD o una miscela di diossine/furani (curva di risposta con un $R^2 > 0,95$ per una dose completa). Tuttavia, ai fini dello screening, si può utilizzare nell'analisi dei campioni a bassa concentrazione una curva dettagliata nei livelli bassi.

- Per i risultati del biotest in un intervallo di tempo costante, è opportuno usare una concentrazione di riferimento di TCDD (circa 3x il limite di determinazione) su un modulo di controllo della qualità. In alternativa, si può utilizzare la risposta relativa di un campione di riferimento paragonata a una curva di taratura di TCDD, dato che la risposta delle cellule può dipendere da molteplici fattori.

- Si raccomanda di compilare e verificare i grafici del controllo della qualità (QC) per ogni tipo di materiale di riferimento, per garantire che il risultato sia conforme alle linee guida indicate.

- L'induzione della diluizione utilizzata per il campione deve situarsi nella parte lineare della curva di risposta, in particolare per i calcoli quantitativi. I campioni che non rientrano nella parte lineare della curva di risposta devono essere diluiti e nuovamente analizzati. Si consiglia pertanto di analizzare almeno 3 diluizioni alla volta.

- Lo scarto percentuale-tipo non deve essere superiore al 15 % quando si effettua una determinazione tripla per ogni diluizione del campione, né superiore al 30 % fra tre esperimenti indipendenti.

- È possibile scegliere come limite di rilevamento un valore equivalente a 3 volte lo scarto-tipo della soluzione di solvente in bianco o della risposta di fondo. Un altro metodo consiste nell'applicare una risposta che sia superiore alla risposta di fondo (fattore d'induzione 5 volte il solvente in bianco) calcolata dalla curva di taratura del giorno. È possibile scegliere come limite di quantificazione un valore equivalente a 5-6 volte lo scarto-tipo della soluzione di solvente in bianco o della risposta di fondo oppure applicare una risposta che sia nettamente superiore alla risposta di fondo (fattore d'induzione 10 volte il solvente in bianco) calcolata dalla curva di taratura del giorno.

7.4. Requisiti specifici per i biotest effettuati con kit (1)

- Occorre seguire le istruzioni del fabbricante relative alla preparazione dei campioni e alle analisi.
- Il kit non deve essere utilizzato oltre la data di scadenza indicata.
- Non si devono utilizzare materiali o componenti previsti per altri kit.
- I kit vanno conservati e utilizzati alle temperature di conservazione e di impiego indicate.
- Il limite di rilevazione per gli immunodosaggi è pari alla somma della media e $3x$ lo scarto tipo, basandosi su 10 analisi ripetute del bianco, diviso per il valore della pendenza dell'equazione di regressione lineare.
- È opportuno impiegare standard di riferimento per le prove di laboratorio, al fine di garantire che la risposta allo standard rientri in un intervallo di valori accettabile.

8. Comunicazione dei risultati

A condizione che il metodo d'analisi impiegato lo consenta, i risultati dell'analisi devono contenere i livelli dei singoli congeneri di PCDD/F e PCB, nonché essere indicati come limite inferiore, limite superiore e valore intermedio, onde fornire la maggior quantità di dati possibile e permettere così d'interpretare i risultati in base alle prescrizioni specifiche.

La relazione deve inoltre menzionare il contenuto lipidico del campione e il metodo impiegato per l'estrazione del grasso.

I recuperi dei singoli standard interni devono essere forniti se si situano al di fuori dell'intervallo menzionato al punto 6 e qualora eccedano il livello massimo; negli altri casi, dietro richiesta.

(1) I kit per biotest attualmente in commercio non hanno dato prove sufficienti di sensibilità e affidabilità, tali da poterli utilizzare per rilevare la presenza di diossine ai livelli richiesti nei campioni di prodotti alimentari e mangimi.

NOTE

AVVERTENZA:

Il testo delle note qui pubblicato è stato redatto ai sensi dell'art. 10, comma 3 del testo unico delle disposizioni sulla promulgazione delle leggi, sull'emanazione dei decreti del Presidente della Repubblica e sulle pubblicazioni ufficiali della Repubblica italiana, approvato con decreto del D.P.R. 28 dicembre 1985, n. 1092, al solo fine di facilitare la lettura delle disposizioni di legge alle quali è operato il rinvio. Restano invariati il valore e l'efficacia degli atti legislativi qui trascritti.

Per le direttive CEE vengono forniti gli estremi di pubblicazione nella Gazzetta Ufficiale delle Comunità europee (GUCE).

Note alle premesse:

— L'art. 76 della Costituzione stabilisce che l'esercizio della funzione legislativa non può essere delegato al Governo se non con determinazione di principi e criteri direttivi e soltanto per tempo limitato e per oggetti definiti.

— L'art. 87 della Costituzione conferisce, tra l'altro, al Presidente della Repubblica il potere di promulgare le leggi e di emanare i decreti aventi valore di legge ed i regolamenti.

— Si riporta il testo dell'art. 117 della Costituzione:

«Art. 117. La potestà legislativa è esercitata dallo Stato e dalle Regioni nel rispetto della Costituzione, nonché dei vincoli derivanti dall'ordinamento comunitario e dagli obblighi internazionali.

Lo Stato ha legislazione esclusiva nelle seguenti materie:

a) politica estera e rapporti internazionali dello Stato; rapporti dello Stato con l'Unione europea; diritto di asilo e condizione giuridica dei cittadini di Stati non appartenenti all'Unione europea;

b) immigrazione;

c) rapporti tra la Repubblica e le confessioni religiose;

d) difesa e Forze armate; sicurezza dello Stato; armi, munizioni ed esplosivi;

e) moneta, tutela del risparmio e mercati finanziari; tutela della concorrenza; sistema valutario; sistema tributario e contabile dello Stato; perequazione delle risorse finanziarie;

f) organi dello Stato e relative leggi elettorali; referendum statali; elezione del Parlamento europeo;

g) ordinamento e organizzazione amministrativa dello Stato e degli enti pubblici nazionali;

h) ordine pubblico e sicurezza, ad esclusione della polizia amministrativa locale;

i) cittadinanza, stato civile e anagrafi;

l) giurisdizione e norme processuali; ordinamento civile e penale; giustizia amministrativa;

m) determinazione dei livelli essenziali delle prestazioni concernenti i diritti civili e sociali che devono essere garantiti su tutto il territorio nazionale;

n) norme generali sull'istruzione;

o) previdenza sociale;

p) legislazione elettorale, organi di governo e funzioni fondamentali di Comuni, Province e Città metropolitane;

q) dogane, protezione dei confini nazionali e profilassi internazionale;

r) pesi, misure e determinazione del tempo; coordinamento informativo statistico e informatico dei dati dell'amministrazione statale, regionale e locale; opere dell'ingegno;

s) tutela dell'ambiente, dell'ecosistema e dei beni culturali.

Sono materie di legislazione concorrente quelle relative a: rapporti internazionali e con l'Unione europea delle Regioni; commercio con l'estero; tutela e sicurezza del lavoro; istruzione, salva l'autonomia delle istituzioni scolastiche e con esclusione della istruzione e della formazione professionale; professioni; ricerca scientifica e tecnologica e sostegno all'innovazione per i settori produttivi; tutela della salute; alimentazione; ordinamento sportivo; protezione civile; governo del territorio; porti e aeroporti civili; grandi reti di trasporto e di navigazione; ordinamento della comunicazione; produzione, trasporto e distribuzione nazionale dell'energia; previdenza complementare e integrativa; armonizzazione dei bilanci pubblici e coordinamento della finanza pubblica e del sistema tributario; valorizzazione dei beni culturali e ambientali e promozione e organizzazione di attività culturali; casse di risparmio, casse rurali, aziende di credito a carattere regionale; enti di credito fondiario e agrario a carattere regionale. Nelle materie di legislazione concorrente spetta alle Regioni la potestà legislativa, salvo che per la determinazione dei principi fondamentali, riservata alla legislazione dello Stato.

Spetta alle Regioni la potestà legislativa in riferimento ad ogni materia non espressamente riservata alla legislazione dello Stato.

Le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano, nelle materie di loro competenza, partecipano alle decisioni dirette alla formazione degli atti normativi comunitari e provvedono all'attuazione e all'esecuzione degli accordi internazionali e degli atti dell'Unione europea, nel rispetto delle norme di procedura stabilite da legge dello Stato, che disciplina le modalità di esercizio del potere sostitutivo in caso di inadempienza.

La potestà regolamentare spetta allo Stato nelle materie di legislazione esclusiva, salva delega alle Regioni. La potestà regolamentare spetta alle Regioni in ogni altra materia. I Comuni, le Province e le Città metropolitane hanno potestà regolamentare in ordine alla disciplina dell'organizzazione e dello svolgimento delle funzioni loro attribuite.

Le leggi regionali rimuovono ogni ostacolo che impedisce la piena parità degli uomini e delle donne nella vita sociale, culturale ed economica e promuovono la parità di accesso tra donne e uomini alle cariche elettive.

La legge regionale ratifica le intese della Regione con altre Regioni per il migliore esercizio delle proprie funzioni, anche con individuazione di organi comuni.

Nelle materie di sua competenza la Regione può concludere accordi con Stati e intese con enti territoriali interni ad altro Stato, nei casi e con le forme disciplinati da leggi dello Stato.»

— La legge 3 febbraio 2003, n. 14, reca: «Disposizioni per l'adempimento di obblighi derivanti dall'appartenenza dell'Italia alle Comunità europee. Legge comunitaria 2002» L'art. 1 e l'allegato B, così recitano:

«Art. 1 (Delega al Governo per l'attuazione di direttive comunitarie). — 1. Il Governo è delegato ad adottare, entro il termine di un anno dalla data di entrata in vigore della presente legge, i decreti legislativi recanti le norme occorrenti per dare attuazione alle direttive comprese negli elenchi di cui agli allegati A e B.

2. I decreti legislativi sono adottati, nel rispetto dell'art. 14 della legge 23 agosto 1988, n. 400, su proposta del Presidente del Consiglio dei Ministri o del Ministro per le politiche comunitarie e del Ministro con competenza istituzionale prevalente per la materia, di concerto con i Ministri degli affari esteri, della giustizia, dell'economia e delle finanze e con gli altri Ministri interessati in relazione all'oggetto della direttiva.

3. Gli schemi dei decreti legislativi recanti attuazione delle direttive comprese nell'elenco di cui all'allegato B nonché, qualora sia previsto il ricorso a sanzioni penali, quelli relativi all'attuazione delle direttive elencate nell'allegato A, sono trasmessi, dopo l'acquisizione degli altri pareri previsti dalla legge, alla Camera dei deputati e al Senato della Repubblica perché su di essi sia espresso, entro quaranta

giorni dalla data di trasmissione, il parere dei competenti organi parlamentari. Decorso tale termine, i decreti sono emanati anche in mancanza del parere. Qualora il termine previsto per il parere dei competenti organi parlamentari scada nei trenta giorni che precedono la scadenza dei termini previsti ai commi 1 e 4 o successivamente, questi ultimi sono prorogati di novanta giorni.

4. Entro un anno dalla data di entrata in vigore di ciascuno dei decreti legislativi di cui al comma 1, nel rispetto dei principi e criteri direttivi fissati dalla presente legge, il Governo può emanare, con la procedura indicata nei commi 2 e 3, disposizioni integrative e correttive dei decreti legislativi emanati ai sensi del comma 1.

5. In relazione a quanto disposto dall'art. 117, quinto comma, della Costituzione, i decreti legislativi eventualmente adottati nelle materie di competenza legislativa delle regioni e delle province autonome di Trento e di Bolzano, entrano in vigore, per le regioni e le province autonome nelle quali non sia ancora in vigore la propria normativa di attuazione, alla data di scadenza del termine stabilito per l'attuazione della normativa comunitaria e perdono comunque efficacia a decorrere dalla data di entrata in vigore della normativa di attuazione adottata da ciascuna regione e provincia autonoma nel rispetto dei vincoli derivanti dall'ordinamento comunitario e, nelle materie di competenza concorrente, dei principi fondamentali stabiliti dalla legislazione dello Stato. A tale fine i decreti legislativi recano l'esplicita indicazione della natura sostitutiva e cedevole delle disposizioni in essi contenute.»

«ALLEGATO B
(Art. 1, commi 1 e 3)

2001/24/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 4 aprile 2001, in materia di risanamento e liquidazione degli enti creditizi;

2001/65/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 27 settembre 2001, che modifica le direttive 78/660/CEE, 83/349/CEE e 86/635/CEE per quanto riguarda le regole di valutazione per i conti annuali e consolidati di taluni tipi di società nonché di banche e di altre istituzioni finanziarie;

2001/81/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 23 ottobre 2001, relativa ai limiti nazionali di emissione di alcuni inquinanti atmosferici;

2001/88/CE del Consiglio, del 23 ottobre 2001, recante modifica della direttiva 91/630/CEE che stabilisce le norme minime per la protezione dei suini;

2001/93/CE della Commissione, del 9 novembre 2001, recante modifica della direttiva 91/630/CEE che stabilisce le norme minime per la protezione dei suini;

2001/95/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 3 dicembre 2001, relativa alla sicurezza generale dei prodotti;

2001/97/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 4 dicembre 2001, recante modifica della direttiva 91/308/CEE del Consiglio relativa alla prevenzione dell'uso del sistema finanziario a scopo di riciclaggio dei proventi di attività illecite;

2001/110/CE del Consiglio, del 20 dicembre 2001, concernente il miele;

2001/112/CE del Consiglio, del 20 dicembre 2001, concernente i succhi di frutta e altri prodotti analoghi destinati all'alimentazione umana;

2002/3/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 12 febbraio 2002, relativa all'ozono nell'aria;

2002/14/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 11 marzo 2002, che istituisce un quadro generale relativo all'informazione e alla consultazione dei lavoratori;

2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 7 maggio 2002, relativa alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali;

2002/39/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 10 giugno 2002, che modifica la direttiva 97/67/CE per quanto riguarda l'ulteriore apertura alla concorrenza dei servizi postali della Comunità;

2002/47/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 6 giugno 2002, relativa ai contratti di garanzia finanziaria;

2002/70/CE della Commissione, del 26 luglio 2002, che stabilisce i requisiti per la determinazione dei livelli di diossine e PCB diossina-simili nei mangimi.»

— La direttiva 2002/70/CE è pubblicata in GUCE L n. 209 del 6 agosto 2002.

— La legge 15 febbraio 1963, n. 281, reca: «Disciplina della preparazione e del commercio dei mangimi».

— Il decreto ministeriale del 20 aprile 1978, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 165 del 15 giugno 1978, reca: «Modalità di prelievo dei campioni per il controllo ufficiale degli alimenti per gli animali».

— Il decreto del Ministro della sanità 11 maggio 1998, n. 241, reca: «Regolamento recante norme di attuazione delle direttive 92/88/CEE, 94/16/CE e 96/6/CE, relative alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nell'alimentazione degli animali».

— Il decreto del Ministro della sanità in data 21 maggio 1999, reca: «Attuazione delle direttive 97/8/CE e 98/60/CE della Commissione, relative alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nella alimentazione degli animali».

Note all'art. 4:

— Il testo dell'art. 117 della Costituzione è riportato nelle note alle premesse.

— Per la direttiva 2002/70/CE vedi note alle premesse.

— Il decreto del Ministro della salute 23 dicembre 2002, n. 317, reca: «Regolamento interministeriale recante norme di attuazione della direttiva 1999/29/CE, relativa alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nell'alimentazione degli animali».

— Il decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, reca: «Definizione ed ampliamento delle attribuzioni della Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e Bolzano ed unificazione, per le materie ed i compiti di interesse comune delle regioni, delle province e dei comuni, con la Conferenza Stato-città ed autonomie locali (pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* 30 agosto 1997, n. 202). L'art. 2, comma 3, così recita:

«3. La Conferenza Stato-regioni è obbligatoriamente sentita in ordine agli schemi di disegni di legge e di decreto legislativo o di regolamento del Governo nelle materie di competenza delle regioni o delle province autonome di Trento e di Bolzano che si pronunzia entro venti giorni; decorso tale termine, i provvedimenti recanti attuazione di direttive comunitarie sono emanati anche in mancanza di detto parere. Resta fermo quanto previsto in ordine alle procedure di approvazione delle norme di attuazione degli statuti delle regioni a statuto speciale e delle province autonome di Trento e di Bolzano».