

---

# Safe substrates for insects to feed food-producing animals

**Substrati sicuri per l'allevamento di insetti destinati all'alimentazione di animali da reddito**

---

InsectFeedChick Project Symposium:

*Insects as feed ingredient in poultry farming*

Padova (Italy), 27/03/2018



# RIKILT Wageningen University & Research

**RIKILT: parte del centro di ricerca dell'Università di Wageningen (Paesi Bassi)**

- Part of Wageningen University & Research (the Netherlands)
- Food Safety Research Institute  
**Istituto per la ricerca sulla Sicurezza alimentare**
- Specialized in:  
**Specializzato in:**
  - Measuring substances  
**Misurazione sostanze**
  - Food fraud and forensic research  
**Frodi alimentari e ricerca forense**
  - Food production chains and emerging risks  
**Filiera produzione alimentare e rischi emergenti**
  - Advise and train governments and companies  
**Aggiornamento e formazione Governi e aziende**



# Structure

## Struttura

1. EU Legislation: use of substrates  
**Legislazione UE: utilizzo dei substrati**
2. Basics of toxicology  
**Principi di tossicologia**
3. Food safety risks and hazards  
**Rischi e pericoli per la Sicurezza alimentare**
4. Insect safety: hazards  
**Sicurezza degli insetti: pericoli**
5. Example of a research project  
**Esempio di un progetto di ricerca**



# Structure

## Struttura

### 1. EU Legislation: use of substrates

**Legislazione UE: utilizzo dei substrati**

2. Basics of toxicology

3. Food safety risks and hazards

4. Insect safety: hazards

5. Example of a research project

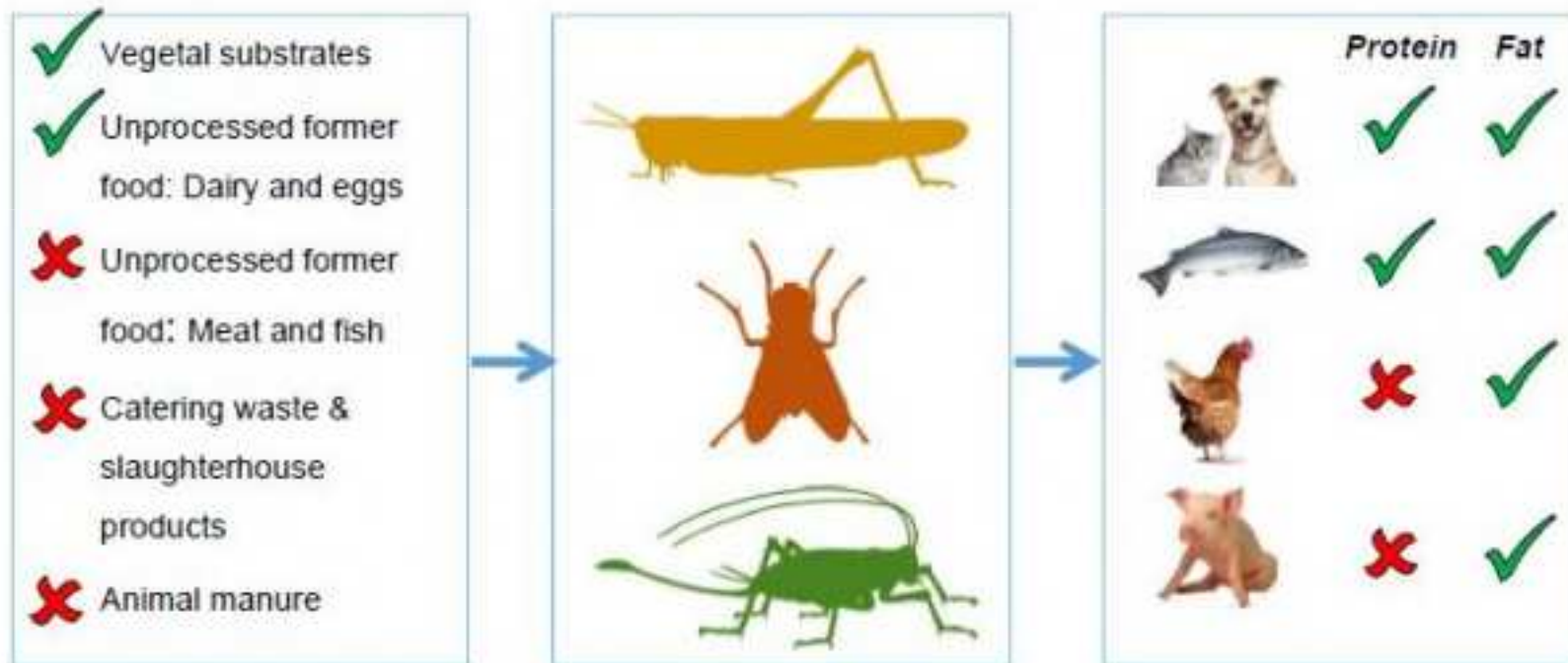


# EU legislation: use of substrates (1)

## Legislazione UE: utilizzo dei substrati (1)

### Opportunità legali per l'utilizzo delle Proteine Animali Trasformate (PAT) in alimentazione animale (UE)

#### EU legal opportunities for the use of insect PAPS in animal feed



<http://www.ipiff.org/our-positions>

# EU legislation: use of substrates (2)

## Legislazione UE: utilizzo dei substrati (2)

Category Categoria	Description Descrizione	Legal status Stato legale	Legal justification Giustificazione legale
<b>A</b>	Allowed (GMP+) vegetable feed materials Materie prime alimentari ammesse (GMP+)	✓	Regulation (EC) No 767/2009; Regulation (EU) No 68/2013
<b>B1</b>	Former foodstuffs (vegetable/animal*) Ex-prodotti alimentari (vegetali/animali*)	✓	<b>Vegetable:</b> Regulation (EC) No 767/2009 <b>Animal:</b> Regulation (EC) No 1069/2009 + Regulation (EU) No 142/2011, Annex X, Chapter II, Section 10

\*: Annex X, Chapter II, Section 10 of Regulation (EU) No 142/2011

- milk,
- milk-based products,
- milk-derived products,
- eggs,
- egg products,
- honey,
- rendered fats,
- collagen,
- gelatine;

\*: Annesso X, Capitolo II, Sezione 10 del Regolamento (UE) No 142/2011

- latte,
- prodotti a base di latte,
- Prodotti derivati dal latte,
- uova,
- ovoprodotti,
- miele,
- grassi fusi,
- collagene,
- gelatina;



# Structure

## Struttura

1. EU Legislation: use of substrates
- 2. Basics of toxicology**  
**Principi di tossicologia**
3. Food safety risks and hazards
4. Insect safety: hazards
5. Example of a research project



# Basics of toxicology (1)

## Principi di tossicologia (1)

- Paracelsus: *"All things are poisonous and nothing is without poison; only the **dose** makes a thing not poisonous."* Paracelso: *"Tutte le cose sono velenose e nulla è privo di veleno; solo la dose rende una cosa non velenosa"*.
- Some agents are hazardous even at very low doses, e.g.  
Alcune sostanze sono pericolose anche a dosi molto basse, ad es.
  - Carcinogens **Sostanze cancerogene**
  - Prions **Prioni**
- Thus: prevention, or otherwise 'As Low as Reasonably Achievable' (ALARA) is key  
Quindi: prevenzione, o altrimenti 'il livello più basso ragionevolmente ottenibile' è la chiave

---

# Basics of toxicology (2)

## Principi di tossicologia (2)

---

### Factors determining adverse effects:

Fattori che determinano effetti avversi:

- Intrinsic toxicity **Tossicità intrinseca**
- Dose (higher -> more severe)

**Dose (maggiore -> più grave)**

- Exposure conditions (route, frequency, mixed, etc.)

**Condizioni di esposizione (percorso, frequenza, misto, etc.)**

- Response of host (species, age, etc.)

**Risposta dell'ospite (specie, età, etc.)**

# Structure

## Struttura

1. EU Legislation: use of substrates
2. Basics of toxicology
- 3. Food safety risks and hazards**  
**Rischi e pericoli per la Sicurezza alimentare**
4. Insect safety: hazards
5. Example of a research project



---

# Food safety risks (*rischio*)

## Rischi per la Sicurezza alimentare

---

- Risk: “a function of the **probability** of an adverse health effect and the **severity** of that effect, consequential to a hazard” (GFL, art. 3(9))
  - **Rischio**, “funzione della **probabilità** e della **gravità** di un effetto nocivo per la salute, conseguente alla presenza di un pericolo”
- Risk = probability \* severity  
**Rischio = probabilità \* gravità**

# Risk table

## Tabella del rischio

		Probability Probabilità				
		Almost impossible Quasi impossibile	Very unlikely Molto improbabile	Unlikely Improbabile	Likely Probabile	Very likely Molto probabile
Severity Gravità	Little damage Danno minimo	1	2	3	4	5
	Some damage Danno lieve	2	4	6	8	10
	Damage Danno	3	6	9	12	15
	Serious damage Danno grave	4	8	12	16	20
	Catastrophe Catastrofe	5	10	15	20	25

---

# Food safety hazards (*pericolo*)

## Pericoli per la Sicurezza alimentare

---

Chemical  
(*chimico*)

Biological  
(*biologico*)

Physical  
(*fisico*)

Allergens  
(*allergeni*)

# Structure

## Struttura

1. EU Legislation: use of substrates
2. Basics of toxicology
3. Food safety risks and hazards
- 4. Insect safety: hazards**  
**Sicurezza degli insetti: pericoli**
5. Example of a research project



---

# Food safety hazards (*pericolo*)

## Pericoli per la Sicurezza alimentare

---

Chemical  
(*chimico*)

Biological  
(*biologico*)

Physical  
(*fisico*)

Allergens  
(*allergene*)

---

# Insect safety: chemical hazards (1)

## Sicurezza degli insetti: pericoli chimici (1)

---

### ■ Main issues:

### ■ Problemi principali:

- Accumulation (repeated doses) or excretion of substances in insects from substrate
- Accumulo (dosi ripetute) o escrezione di sostanze negli insetti dal substrato
- Increased mortality/decreased growth rate among insects
- Incremento mortalità/depressione crescita degli insetti

# Insect safety: chemical hazards (2)

## Sicurezza degli insetti: pericoli chimici (2)

- **Chemical hazard categories:**
- **Categorie di rischio chimico:**
  - Mycotoxins **Micotossine** [fungal toxins **tossine fungine**]
  - Metals **Metalli** [e.g. mercury **mercurio**]
  - Environmental contaminants [e.g. dioxins **diossine**]  
**Contaminanti ambientali**
  - Pesticides **Pesticidi**
- **Legal limits** (Maximum residue levels (MRLs)) have been set for most chemical hazards
- **Limiti legali** (Livelli massimi residui), stabiliti per la > parte dei pericoli chimici

# Insect safety: chemical hazards (3)

## Sicurezza degli insetti: pericoli chimici (3)

### Sostanze chimiche potenzialmente pericolose per gli insetti: Chemicals of concern for insects:

- Cadmium (Black Soldier Fly)<sup>1,2</sup> Cadmio (Mosca soldato nera BSF)
- Arsenic (Yellow Mealworm)<sup>2</sup> Arsenico (Tenebrione mugnaio TM)
- BSFL and YMW have high tolerance to AFB1 and is not retained<sup>3</sup>
- BSF e TM hanno un'elevata tolleranza per Aflatossina B1 e non la accumulano
- No bio-accumulation of two antibiotics, an antiepileptic drug, and two fungicides in BSF grown in a composting system <sup>4</sup>  
Nessun bioaccumulo di due antibiotici, un antiepilettico e due fungicidi in BSF allevata in un sistema di compostaggio

---

# Food safety hazards (*pericolo*)

## Pericoli per la Sicurezza alimentare

---

Chemical  
(*chimico*)

Biological  
(*biologico*)

Physical  
(*fisico*)

Allergens  
(*allergene*)

# Insect safety: biological hazards (1)

## Sicurezza degli insetti: pericoli biologici (1)

- Issue; pathogens for:
- Problema; patogeni per:
  - Human
  - Uomo
  - Target animal species (e.g. poultry)
  - Specie animali bersaglio (ad es. avicoli)
  - Insect
  - Insetti
- Mammal pathogens  $\neq$  insect pathogens  
Patogeni mammiferi  $\neq$  patogeni insetti

# Insect safety: biological hazards (2)

## Sicurezza degli insetti: pericoli biologici (2)

- Insects can transmit pathogens from the substrates to target animal species (e.g. *Campylobacter*, *Salmonella*), and from there to humans
- Gli insetti possono trasmettere agenti patogeni (ad es. *Campylobacter*, *Salmonella*) dai substrati alle specie animali bersaglio, e da esse agli esseri umani
- Substrates can contain insect pathogens + insecticides
- I substrati possono contenere patogeni per insetti + insetticidi

---

# Food safety hazards (*pericolo*)

## Pericoli per la Sicurezza alimentare

---

Chemical  
(*chimico*)

Biological  
(*biologico*)

Physical  
(*fisico*)

Allergens  
(*allergeni*)

# Allergens (1)

## Allergeni (1)

**Two main issues: Due problemi principali:**

1. Food allergens **Allergeni alimentari**

2. Worker safety **Sicurezza lavoratori**

- **Cross reactivity:** tropomyosin in YMW very similar to that in House Dust Mite and crustaceans
- **Reattività incrociata:** tropomiosina in YMW molto simile a quella degli acari della polvere domestica e dei crostacei
- **Chitin** (main component of insect exoskeletons): hypothesized that small particles are related to lung diseases
- **Chitina** (componente principale dell'esoscheletro di insetti): ipotizzato che piccole particelle siano legate a malattie polmonari

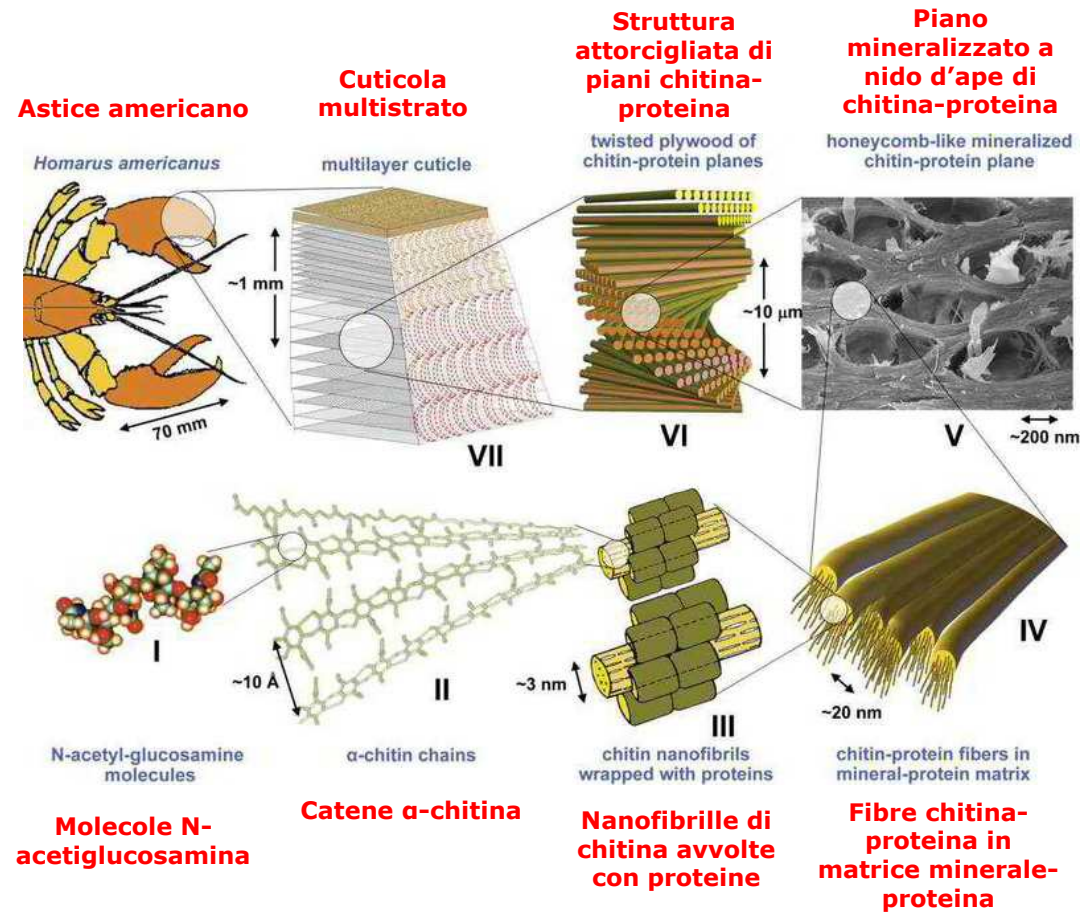
# Allergens (2) [chitin]

## Allergeni (2) [chitina]

### Fonti di chitina Sources of Chitin



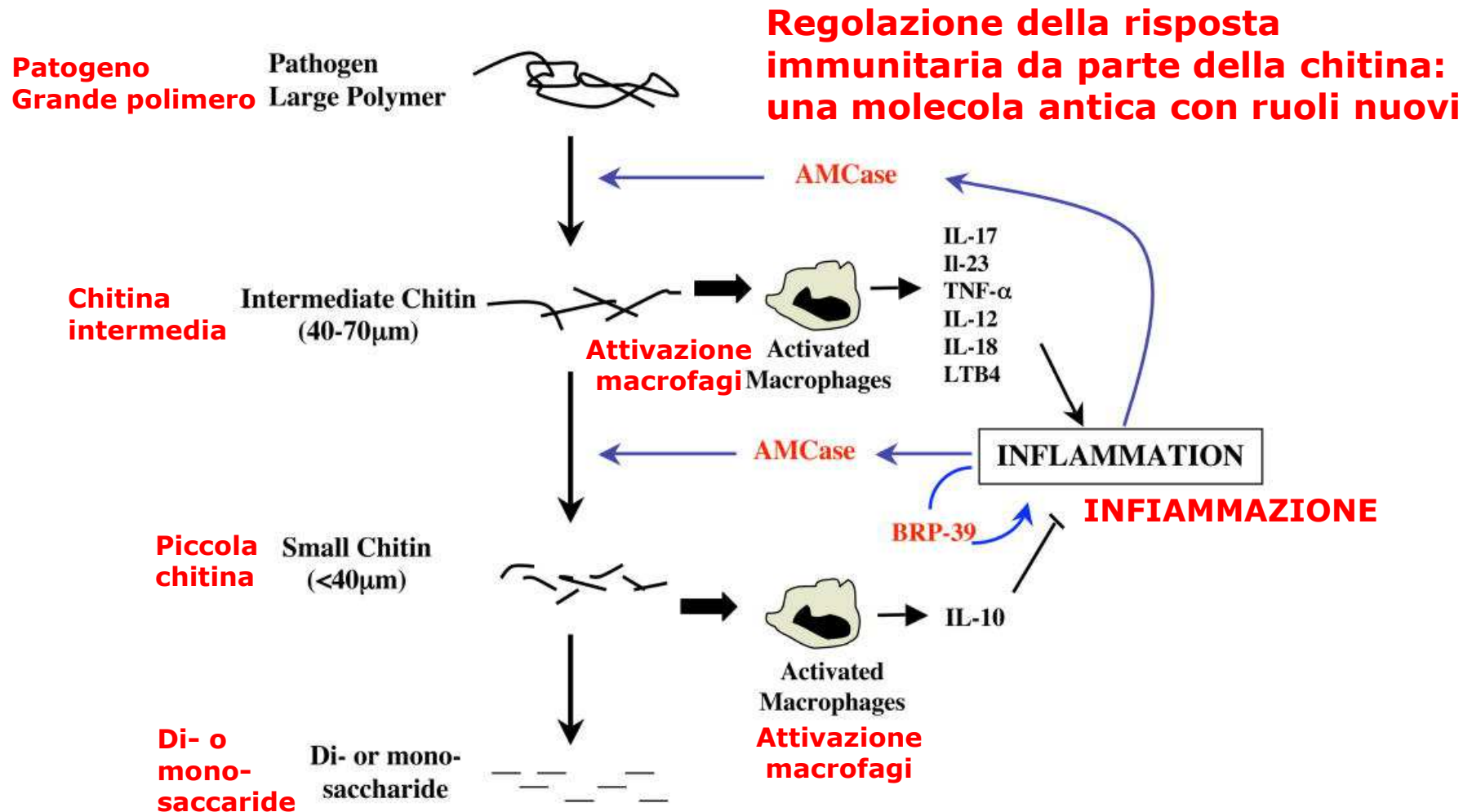
<https://experiment.com/u/gnVFq>



<http://www.dierk-raabe.com/biological-natural-materials/chitin/>

# Allergens (3) [chitin]

## Allergeni (3) [chitina]



[Curr Opin Immunol](#). 2008 Dec;20(6):684-9. doi: 10.1016/j.coi.2008.10.002. Epub 2008 Nov 1.

**Chitin regulation of immune responses: an old molecule with new roles.**

Lee CG<sup>1</sup>, Da Silva CA, Lee JY, Hartl D, Elias JA.

# Structure

## Struttura

1. EU Legislation: use of substrates
2. Basics of toxicology
3. Food safety risks and hazards
4. Insect safety: hazards
- 5. Example of a research project**  
**Esempio di un progetto di ricerca**



# Example of a research project (1)

## Esempio di un progetto di ricerca (1)

[Toxins \(Basel\)](#). 2018 Feb; 10(2): 91.

PMCID: PMC5848191

Published online 2018 Feb 24. doi: [10.3390/toxins10020091](https://doi.org/10.3390/toxins10020091)

### **Tolerance and Excretion of the Mycotoxins Aflatoxin B<sub>1</sub>, Zearalenone, Deoxynivalenol, and Ochratoxin A by *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens* from Contaminated Substrates**

[Louise Camenzuli](#),<sup>1,2</sup> [Ruud Van Dam](#),<sup>2</sup> [Theo de Rijk](#),<sup>2</sup> [Rob Andriessen](#),<sup>3</sup> [Jeroen Van Schelt](#),<sup>4</sup> and [H. J. \(Ine\) Van der Fels-Klerx](#)<sup>2,\*</sup>

[Author information](#) ► [Article notes](#) ► [Copyright and License information](#) ►

### **Tolleranza ed escrezione delle Micotossine Aflatossina B<sub>1</sub>, Zearalenone, Deossinivalenolo, e Ocratossina A da parte di *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens* allevati su substrati contaminati**

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5848191/pdf/toxins-10-00091.pdf>

# Example of a research project (2)

## Esempio di un progetto di ricerca (2)

**Sintesi della metodologia:** i substrati sono stati addizionati con micotossine e gli insetti sono stati analizzati per verificare se avevano accumulato le micotossine.

- **Summary of methodology:** substrates were spiked with mycotoxins and the insects were analysed to check whether they accumulated the mycotoxins.
- Insect species (larvae):
- **Specie di insetto (larve):**
  - Lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*, LMW)
  - **Alfitobio** (*Alphitobius diaperinus*, LMW)
  - Black soldier fly (*Hermetia illucens*, BSF)
  - **Mosca soldato nera** (*Hermetia illucens*, BSF)

**Alfitobio (*Alphitobius  
diaperinus*)**



<https://www.biolib.cz/en/image/id196451/>

**Mosca soldato nera  
(*Hermetia illucens*)**



<http://www.co-prot.com/news/black-soldier-fly-larva-in-the-breeding-enclosure>

# Example of a research project (3)

## Esempio di un progetto di ricerca (3)

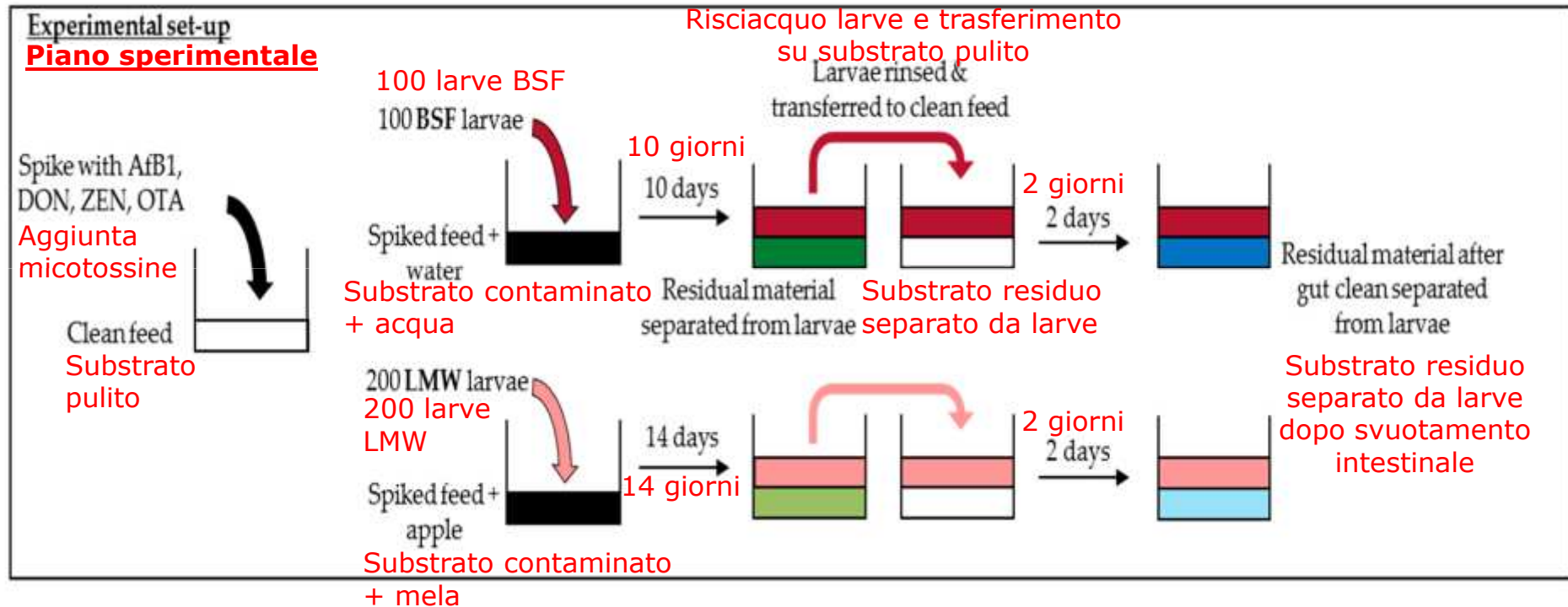
Micotossine: tossine prodotte da funghi

- Mycotoxins: toxins produced by fungi
- Example: Aflatoxin
- Esempio: Aflatossina
  - Found in many staple foods (corn, rice, spices, etc.)
  - Trovato in molti alimenti di base (mais, riso, spezie, ecc.)
  - Feed -> food (e.g. milk)
  - Mangime -> cibo (ad es. latte)
  - Health effects: mostly affecting liver (cancer)
  - Effetti sulla salute: colpiscono principalmente il fegato (cancro)



# Example of a research project (4)

## Esempio di un progetto di ricerca (4)



# Example of a research project (5)

## Esempio di un progetto di ricerca (5)

### Micotossine:

### Mycotoxins:

- aflatoxin B1 **aflatossina B1**
- deoxynivalenol (DON)  
**deossinivalenolo (DON)**
- ochratoxin A **ocratossina A**
- Zearalenone **Zearalenone**
- Mixtures of above **Mix delle precedenti**

### Livelli:

### Levels:

- 1
- 10
- 25 x EU MRL (MRL livello max residuo)

**Analysed:** above + main metabolites

Insect + leftover feed + frass

**Analizzati:** succitati + metaboliti principali degli insetti + substrato residuo + deiezioni insetti

---

# Example of a research project (6)

## Esempio di un progetto di ricerca (6)

---

### Risultati:

### Results:

- Both species can tolerate high levels of mycotoxins in substrate (mortality / growth rate largely unaffected)
- Entrambe le specie di insetto tollerano elevati livelli di contaminazione del substrato da micotossine (mortalità / accrescimento non influenzati)
- Insects excreted or metabolize the mycotoxins in their feed
- Gli insetti hanno espulso o metabolizzato le micotossine presenti nel substrato

# Example of a research project (7)

## Esempio di un progetto di ricerca (7)

**Bilancio generale:** discrepanza tra livelli nel substrato contaminato e livelli totali dopo l'esperimento

- Mass balance: discrepancy between levels in spiked feed and total levels after experiment
  - This suggests that the mycotoxins were metabolized into other substances -> more research is needed
  - Questo suggerisce che le micotossine sono state metabolizzate in altre sostanze -> sono necessarie ulteriori ricerche
  - Speculation: insects can neutralize mycotoxins? Interesting for feed industry!
  - Speculazione: gli insetti possono neutralizzare le micotossine? Interessante per l'industria dei mangimi!

---

End  
Fine

---

Questions?  
**Domande?**

