

# AFLATOSSICOSI

## Individuazione e gestione dei punti critici negli allevamenti da latte



**Anna Acciaioli**

Dipartimento di Scienze Zootecniche  
Università degli Studi di Firenze



**Renzo Malvezzi**

Associazione Allevatori  
PISTOIA

# MICOTOSSINE

- ▶ **Prodotti del metabolismo secondario di alcune specie fungine** in grado di colonizzare le colture in campo o le derrate stoccate:
  - **cereali, (mais, grano, orzo, ecc.),**
  - **alcune derrate alimentari (caffè, pistacchi)**
  - **mangimi finiti contenenti cereali già contaminati.**

possono essere prodotte in qualunque fase della filiera produttiva di un alimento

- ▶ **Sostanze tossiche per l'uomo e per gli animali superiori** che causano patologie acute o croniche

# MICOTOSSINE

**La presenza delle micotossine è strettamente legata alla crescita del fungo che le produce; senza crescita del fungo non si hanno micotossine.**

Le micotossine possono persistere a lungo dopo che il fungo si è sviluppato ed è morto.

**La distruzione del fungo permette di fermare la produzione di tossine ma non rimuove quelle già presenti.**

Le spore sono trasportate dalle correnti aeree e quindi con condizioni ideali (temperatura, umidità) germinano, seguita da una rapida crescita di un nuovo fungo e da una nuova produzione di spore.

I funghi che crescono sulle derrate alimentari sono moltissimi ma solo **poche specie producono micotossine.**

# MICOTOSSINE e CEREALI

Nei nostri ambienti i **CEREALI** sono i prodotti con la più elevata probabilità di contaminazione da micotossine

(Logrieco, 2001)

- ▶ Utilizzo diretto per l'alimentazione umana
- ▶ Elevato utilizzo di cereali e mangimi derivati nella dieta degli animali allevati
  - Riso, triticale, avena sono meno colpiti
  - Grano, orzo e mais più suscettibili

(Abramson, 1998; Bottalico, 2002)

# FUNGHI TOSSIGENI

Suddivisione pratica dei funghi tossigeni in base alle loro esigenze in contenuto di umidità del substrato e loro ambiente elettivo:

## FUNGHI di CAMPO



(> 20-22 % umidità)

*Fusarium*  
*Alternaria*

## FUNGHI di MAGAZZINO



(< 18-20 % umidità)

*Aspergillus*  
*Penicillium*

Questa distinzione, elaborata per gli ambienti a clima temperato, è solamente indicativa

(Visconti, 1999; Bottalico, 1998)

## DESOSSINIVALENOLO (DON)

E' prodotto da funghi del genere Fusarium. Sono colpiti i cereali. **Gli animali più sensibili sono i suini** che presentano una diminuzione dei consumi alimentari e vomito. **E' immunosoppressore e può dare problemi renali.**

## ZEARALENONI

Gruppo di micotossine prodotte da diverse specie di Fusarium, **presentano un'azione estrogeno-simile.**

## FUMONISINE (FB1, FB2, FB3)

Prodotte anch'esse da funghi del genere Fusarium. Il MAIS è il cereale più colpito. **Nei ratti produce lesioni al fegato e tumorali.**

## TRICOTECENI

prodotti da diversi tipi di funghi, sono classificate nei gruppi A e B e **comprendono diverse tossine.**

Gli effetti principali sono **l'inibizione della sintesi proteica**, del Dna e del Rna.

## OCRATOSSINE

prodotte da funghi dei generi *Aspergillus* e *Penicillium*.

Nei monogastrici presentano **effetti di nefrotossicità**, nei ruminanti vengono disattivate dalla flora ruminale.

Hanno attività cancerogena, sono facilmente assorbibili e difficilmente eliminabili dal flusso sanguigno.

# AFLATOSSINE

Gruppo di tossine molto potenti rappresentate da B1, B2, G1, G2 e M1.

Nei suini possono causare:

riduzione dell'accrescimento  
diminuzione della resistenza alle malattie  
epatite e anche morte dell'animale.

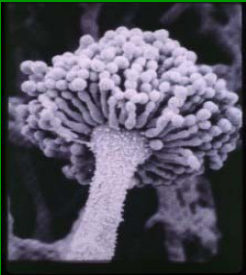
Sono prodotte da funghi del genere *Aspergillus* che si sviluppano in campo prima del raccolto, in seguito a stress da siccità.

**Aspergillus Flavus**

# AFLATOSSINE

## Funghi produttori:

- ▶ *Aspergillus flavus* → AF B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> (ceppi tossigeni 45 %)
- ▶ *Aspergillus parasiticus* → AF B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> (ceppi tossigeni 92 %)



Funghi molto diffusi, ubiquitari, normalmente saprofiti e in grado di degradare qualunque tipo di materiale organico

Sono ritenuti pericolosi agenti di ammuffimento post-raccolta

Tossinogenesi	T min	T max	T opt	a <sub>w</sub> min
<i>A. flavus</i>	8	42	30-40	0,85
<i>A. Parasiticus</i>	8	42	30-40	0,85

# AFLATOSSINE

## Contaminazione in campo:

Infezione nel mais avviene con la senescenza delle setole

Ammuffimenti di colore grigio-giallastro, soprattutto all'apice delle spighe



## Risultano essere fattori predisponenti:

- semine tardive
- raccolte tardive  
(bassa umidità della granella)
- alti investimenti alla semina
- stress idrici (concimazioni-irragazioni)
- attacchi parassitari (Piralide)



# **PRINCIPALI SINTOMI SUGLI ANIMALI DELLE MICOTOSSICOSI**

- **Ridotta ingestione**
- **Ridotta produttività**
- **Peggioramento parametri riproduttivi (iper o ipo risposta estrogenica)**
- **Aumento della incidenza delle malattie (infettive e dismetaboliche)**
- **Turbe digestive (diarrea, acidosi)**
- **Disturbi nervosi**
- **Non risposta ai trattamenti terapeutici o profilattici (vaccinazioni)**
- **Morte (in casi molto rari)**

# ASPETTI NUTRIZIONALI

La contaminazione degli alimenti con **Aflatossina B1** determina sugli animali:

→ riduzione del valore nutritivo degli alimenti

Energia = - 5%

Proteina = - 7%

Grassi = - 60%

→ produzione di sostanze ad azione antibiotica che riducono l'attività ruminale:

blocchi ruminali

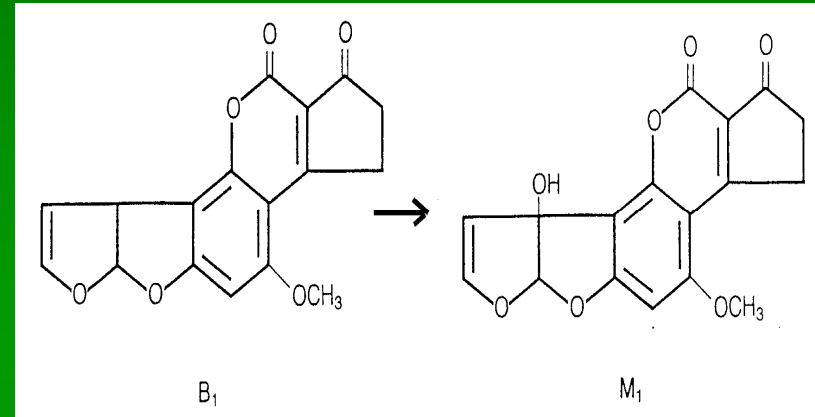
dismetabolie ecc.

# ASPETTI NUTRIZIONALI

## l'aflatossina B1



Ingerita con gli alimenti, viene assorbita e nel fegato e nei reni si trasforma, attraverso un processo di idrossilazione nella:



## l'aflatossina M1

che viene successivamente eliminata con i liquidi organici: urine, latte e bile



nel **LATTE**

compare circa 12 ore dalla somministrazione dell'alimento contaminato e si esaurisce dopo 48-72 ore dalla sua sospensione

# ASPETTI NUTRIZIONALI

## L' Aflatossina B1

- una volta ingerita **viene in buona parte demolita** dall'attività ruminale:

**Conversione: B1 = 55 → M1 = 1**

- è **cancerogena** per l'uomo e per gli animali, nei quali vengono ridotte le difese immunitarie

**Cancerogenicità: M1 = 1/10 B1**

- è **resistente al calore**, quindi alla pastorizzazione: i formaggi ricavati da latte contenente M1 contengono la tossina

**Concentrazione nel formaggio ???**

# CARRY-OVER NEL LATTE

Passaggio in quantità variabile a seconda:

- **specie animale** (Nel latte di bufala si ritrovano anche Aflatossina M<sub>2</sub> e Aflatossina B<sub>1</sub>)
- **produzione di latte** (maggiore passaggio nelle bovine ad alta produzione: con produzioni di 20 e 46 Kg di latte al giorno il carry-over di Aflatossina M<sub>1</sub> è pari rispettivamente a 2% e 5,7%)
- **stadio di lattazione** (all'inizio della lattazione il carry-over può superare anche di 3-3,5 volte i valori che si hanno in lattazione avanzata)
- **stato sanitario della mammella**

# AFLATOSSINA M<sub>1</sub> NEL LATTE E NEI DERIVATI

Aflatossina M<sub>1</sub> nel latte è associata alla frazione proteica  
inoltre è stabile al trattamento termico, tipico della  
caseificazione, quindi:



Siero - ricotta ??



# AFLATOSSINA M<sub>1</sub> NEL LATTE E NEI DERIVATI

- **Nel latte scremato** le concentrazioni possono essere maggiori rispetto al latte intero perché la molecola non si lega ai grassi e quindi non viene eliminata con la scrematura: per lo stesso motivo il burro non rappresenta un alimento a rischio
- I processi fermentativi (**Yogurt**) non distruggono l'Aflatossina M<sub>1</sub>
- **Concentrazione nella cagliata** rispetto al latte è in media 3 - 4 volte superiore, aumenta con la stagionatura

# LIMITI DI LEGGE **Regolamento (CE) N. 466/2001**

Sostanze indesiderabili	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali	Contenuto massimo nel mangime (umid 12%)	
		mg/Kg (ppm)	µg/kg (ppb)
Aflatossina B <sub>1</sub>	Tutte le materie prime per mangimi	0,02	20
	Mangimi completi per bovini, ovini e caprini, ad eccezione di:	0,02	20
	mangimi completi per animali da latte	0,005	5
	mangimi completi per vitelli e agnelli	0,01	10
	Mangimi completi per suini e pollame (salvo animali giovani)	0,02	20
	Altri mangimi completi	0,01	10
	Mangimi complementari per bovini, ovini e caprini (ad eccezione dei mangimi complementari per animali da latte, vitelli e agnelli)	0,02	20
	Mangimi complementari per suini e pollame (salvo animali giovani)	0,02	20
Altri mangimi complementari	0,005	5	
Aflatossina M <sub>1</sub>	Latte		0,05
	Formaggi	?	?

# AFLATOSSINA M<sub>1</sub> NEI FORMAGGI

Alcuni Paesi Europei hanno fissato dei limiti per l'Aflatossina M<sub>1</sub> nei prodotti lattiero caseari

Paese	Prodotto	Limite (ppb)
Austria	Siero, prodotti siero liquido	0,025
	Siero in polvere	0,4
	Formaggio	0,25
	Latte in polvere, latte condensato	0,4
	Burro	0,02
Francia	Latte in polvere	0,5
	Latte per prodotti per l'infanzia	0,03
	Latte in polvere per l'infanzia	0,3
Olanda	Burro	0,02
	Formaggi	0,2
Svizzera	Formaggi	0,25

<b>Formaggio</b>	<b>Coefficiente</b>
<b>Parmigiano reggiano</b>	<b>15,15</b>
<b>Grana padano</b>	<b>15,15</b>
<b>Asiago d'allevato</b>	<b>10,54</b>
<b>Asiago pressato</b>	<b>8,95</b>
<b>Montasio</b>	<b>10,00</b>
<b>Fontina, Bitto, Branzi</b>	<b>9,35</b>
<b>Altri a pasta semicotta</b>	<b>10,50</b>
<b>Provolone Valpadana</b>	<b>11,11</b>
<b>Caciocavallo Silano</b>	<b>10,52</b>
<b>Mozzarella</b>	<b>7,92</b>
<b>Scamorza</b>	<b>8,33</b>
<b>Gorgonzola</b>	<b>8,33</b>
<b>Italico</b>	<b>8,65</b>
<b>Crescenza, Casatella, Stracchino</b>	<b>6,66</b>
<b>Taleggio, Quartirolo lombardo</b>	<b>8,33</b>
<b>Robiola</b>	<b>7,00</b>
<b>Bra duro</b>	<b>11,11</b>
<b>Bra tenero</b>	<b>9,50</b>
<b>Raschera</b>	<b>11,00</b>
<b>Castamagno</b>	<b>11,50</b>
<b>Toma piemontese</b>	<b>9,09</b>
<b>Caciotta</b>	<b>11,00</b>
<b>Yogurt</b>	<b>1,12</b>

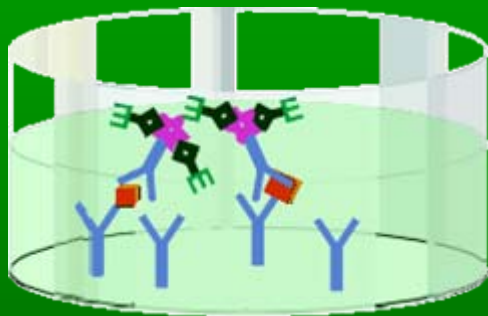
# DETERMINAZIONE ANALITICA

Il Metodo Risponde ai requisiti dettati dalla NORMA EUROPEA  
UNI CEI EN ISO IEC 17025

## Metodo di Screening:ELISA

E.L.I.S.A. = Enzyme Linked  
Immunosorbent Assay

- VELOCE
- POCO COSTOSO



Si misura l'assorbanza  
a 450 nm

Tempi Richiesti:

Preparazione del Campione  
Esecuzione del Saggio

0,5 ore  
2 ore

**test ELISA : metodo "Competitivo Indiretto"**  
nel quale il segnale diminuisce  
all'aumentare della concentrazione  
dell'analita.

# Metodo di conferma:HPLC

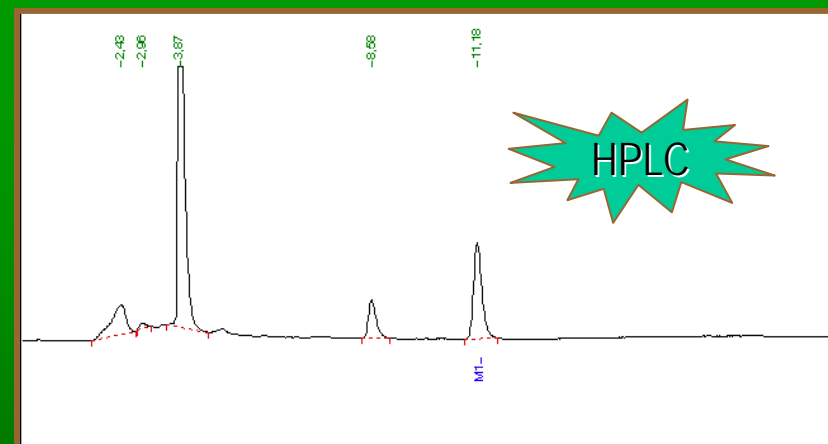
- PIU' PRECISO (in un range più ampio)
- TEMPI PIÙ LUNGI
- COSTOSO

## Analisi Cromatografica

Eluizione ISOCRATICA  
(Acetonitrile 25%-  
Acqua 75%)  
Rivelazione a  
FLUORESCENZA  
Eccitazione 363 nm  
Emissione 433 nm



▲ Aflat. M1      🧫 Anticorpo monoclonale  
◆●■ Altri componenti del latte



**CORRELAZIONE SIGNIFICATIVA CON “ELISA”  
NEI VALORI INTERMEDI**

# *INTERVALLO*



# PROBLEMATICA NEL RAZIONAMENTO

Esempio di una situazione di allevamento:

Limite di legge di M1 nel latte = **0,05 ppb /l**  
Tasso di trasferimento dagli alimenti (B1)  
al latte (M1) = **55** → 1

Es:

Produzione bovine = **25 l /capo /d**

Tenore soglia totale di M1 escreto col latte/ capo /d:

$$0,05 \times 25 = 1,25 \text{ ppb M1}$$

Quantità di B1 che la bovina può ingerire per non superare questa soglia:

$$1,25 : 55 = 68,75 \text{ ppb B1}$$

# PROBLEMATICA NEL RAZIONAMENTO

Ingestione bovina = **20 kg SS /capo /d**

La quantità massima di B1 della razione sarà:

**$(68,75 : 20) = 3,44$  ppb per kg di SS**

**$(3,44 \times 0.85) = 3$  ppb per kg di TQ**

il limite di legge per alimenti completi per  
animali da latte = **5 ppb**

# PROBLEMATICA NEL RAZIONAMENTO

razione tipo per vacca da latte produzione 25 l

alimento	Kg/T Q	Valori medi	Limite legge ppb/kg	Apporto B1 totale
Silomais	18	(0,45)		8
Fieno Med. 2T	7	(0,8)		6
<b>Mais farina</b>	<b>6</b>		<b>20</b>	<b>120</b>
Polpe bietola	2	(1,2)		2,5
Far. Soia estr.	1	(1)		1
<b>totale</b>	<b>34</b>		<b>5</b>	<b>137,5</b>

$137,5 \text{ ppb B1} : 55 = 2,5 \text{ ppb di M1}$

$2,5 : 25 \text{ l} = 0,1 \text{ ppb di M1 nel latte}$

Con la razione stiamo entro i limiti di legge ma la bovina ingerisce troppa B1 per produrre un latte entro i limiti

# PROBLEMATICA NEL RAZIONAMENTO

razione tipo per vacca da latte produzione 25 l

alimento	Kg/T Q	Valori medi	Limite legge ppb/kg	Apporto B1 totale
Silomais	18	(0,45)		8
Fieno Med. 2T	7	(0,8)		6
<b>Mangime comp. int. (per latte)</b>	<b>7</b>		<b>5</b>	<b>35</b>
Polpe bietola	2	(1,2)		2,5
<b>totale</b>	<b>34</b>		<b>5</b>	<b>57,5</b>

$57,5 \text{ ppb B1} : 55 = 0,9 \text{ ppb di M1}$

$0,9 : 25 \text{ l} = 0,04 \text{ ppb di M1 nel latte}$

**Con la razione stiamo entro i limiti di legge e la bovina produce un latte entro i limiti**

# PROBLEMATICAMIA NEL RAZIONAMENTO

In questo calcolo abbiamo utilizzato un valore di  
carry-over = 55/1

Esiste comunque una elevata variabilità dovuta:

- a fattori individuali (fra gli animali)
- allo stadio di lattazione
- al livello produttivo
- alla sanità delle mammelle

I diversi autori concordano che per garantire un  
livello di M1 nel latte entro i limiti,

**la bovina non deve superare l'ingestione  
di 40 ppb di B1/d**

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

## TIPOLOGIA AZIENDALE:

**A** Produce direttamente foraggi e concentrati

Produce direttamente solo i foraggi ed  
acquista i concentrati

**B**

Materie prime:  
granaglie e  
sottoprodotti

**C**

Prodotti  
dell'industria  
mangimistica

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

AZIENDA **(A)**

Produce direttamente foraggi e concentrati

## FORAGGI:

Fieni  
Insilato di mais  
Insilato di erba  
fienosilo

## CONCENTRATI:

**Mais**  
Orzo  
Favino

**L'ATTACCO** da parte dei funghi che producono micotossine

**inizia in campo e procede nella fase di essiccazione e di stoccaggio**

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

## Per i fieni sono fasi a rischio:

- ▶ Il processo di fienagione in tutte le sue fasi (clima piovoso)
- ▶ La conservazione (umidità di raccolta e locali di conservazione)

## Per gli insilati sono fasi a rischio:

- ▶ Il periodo vegetativo, durante il quale possono essere già state attaccate le granelle
- ▶ La fase di insilamento (inquinamento con terra e presenza di aria)
- ▶ La conservazione (presenza di aria)

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

**Nelle granelle (mais) sono elementi di rischio:**

**in campo:**

- ▶ clima caldo e siccità, stress idrici (2003)
- ▶ attacchi parassitari
- ▶ errori di concimazione e di irrigazione

**alla raccolta:**

- ▶ Impiego di macchine e tecniche inadeguate (prodotto sporco, cariossidi frantumate, presenza di frammenti di tutoli ecc.)
- ▶ Raccolta ritardata (cariossidi a bassa umidità e che sono rimaste troppo tempo in campo)

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

## All'essiccazione:

- ▶ attesa prolungata nei piazzali dell'essiccatore
- ▶ essiccazione troppo veloce (screpolature)
- ▶ pulitura difettosa (riaggiunta nel prodotto essiccato dei prodotti della ventilazione)

## Allo stoccaggio:

- ▶ materiale stivato con umidità  $> 13-14\%$
- ▶ temperature comprese fra  $27^{\circ}$  e  $32^{\circ}$
- ▶ contenitori e ambienti con residui di prodotti contaminati
- ▶ contenitori di materiale che facilita la condensa
- ▶ ambienti di stoccaggio umidi e poco areati
- ▶ attacchi parassitari e presenza di roditori

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

## AZIENDA **B**

Produce direttamente solo i foraggi ed acquista i concentrati sotto forma di materie prime: granaglie e sottoprodotti

**Può essere individuata come la tipologia aziendale a maggior rischio perchè:**

- ▶ contempla tutti i rischi dell'azienda A
- ▶ non conosce tuttavia come sono avvenute le fasi di campo, di raccolta e stoccaggio delle derrate acquistate
- ▶ vi è la ricerca di prodotti che abbassino il costo della razione come alcuni sottoprodotti

- ▶ **Sottoprodotti della lavorazione dei cereali**  
**farinetta di mais** residua dalla produzione dello spezzato e raccoglie la parte polverulenta  
**corn gluten meal** (prodotto d'importazione, deriva dalla fermentazione alcolica del mais) umido in origine, viene disidratato e subisce lunghi periodi di trasporto
- ▶ **Sottoprodotti dello zuccherificio**  
**bucette (polpe esauste di bietola)** la loro qualità è molto variabile e dipende dalle condizioni di coltivazione, raccolta e conservazione prima e dopo la l'estrazione.
- ▶ **Panelli e farine di estrazione degli oli**  
**Arachidi ecc.**
- ▶ **Semi di cotone** è il prodotto a maggior rischio

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

Alimento	Limite legge ppb/kg
<b>Cotone</b>	<b>20</b>
<b>Corn gluten</b>	<b>20</b>
<b>Farinetta mais</b>	<b>20</b>
<b>Mais</b>	<b>20</b>
<b>Polpe di bietola</b>	<b>50</b>
<b>Soia f.e.</b>	<b>50</b>
<b>Unifeed</b>	<b>5</b>
<b>Silomais e fieno silo</b>	<b>50</b>
<b>Fieno</b>	<b>50</b>
<b>Altri cereali</b>	<b>50</b>
<b>Mangimi completi</b>	<b>5</b>

**RISCHIO B1**

+



-

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

AZIENDA ©

Produce direttamente solo i foraggi ed acquista i concentrati sotto forma di prodotti dell'industria mangimistica

In questo caso subentra la figura dell'

**azienda mangimistica**

che è caratterizzata da una serie molteplice di aspetti, alcuni che aumentano i rischi, altri che sono in grado di contenerli od addirittura di evitarli.

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

## Fattori che aumentano i rischi

- ▶ **Maggior facilità di reperire prodotti dal mercato estero, (le derrate provengono spesso da Paesi con climi caldo umidi, America Latina, Africa, Asia) e che hanno subito trasporti in condizioni precarie**
- ▶ **Utilizzo massiccio di sottoprodotti**
- ▶ **L'impiego di molti prodotti all'interno di una miscela può facilitare il trasferimento di muffe o spore anche in derrate sane (che possono riattivarsi in condizioni di stoccaggio non corretto)**

# INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI CRITICI

## Fattori che sono in grado di contenere i rischi

- ▶ Possibilità di effettuare determinazioni analitiche sul prodotto “in ingresso” e “in uscita” (operazioni di routine)
- ▶ Possibilità di stoccare separatamente e successivamente tagliare partite di diversa qualità in modo da non superare la soglia di legge
- ▶ Lavorazioni ed interventi che riducono il livello di inquinamento (la fioccatatura previo lavaggio delle cariossidi in controcorrente di vapore acqueo)
- ▶ Aggiunta di prodotti a capacità adsorbente sulle tossine (bentonite e zeoliti sono ingredienti dei pellettati)

# LA PREVENZIONE

## in campo:

- impiegare varietà resistenti ai funghi
- evitare stress idrici alle piante
- impiegare tecniche colturali idonee (concimazioni, rotazioni colturali, lotta antiparassitaria)
- trebbiare al giusto grado di umidità della cariosside (28%) e con idonee tecniche e attrezzatura

## nella fase di essiccazione:

- essiccare correttamente la granella (tempi e temperature)
- procedere ad una accurata pulitura della granella

# LA PREVENZIONE

## nella fase di stoccaggio:

- garantire il livello di umidità della granella entro il 13-14 %
- conservare i mangimi in ambiente fresco e asciutto (arieggiato)
- mantenere pulite le strutture di stoccaggio
- dimensionare i silos al numero degli animali per consentirne il completo svuotamento
- mantenere pulite le mangiatoie
- utilizzare prodotti fungicidi e fumiganti per la pulizia dei locali e delle attrezzature

# LA PREVENZIONE

## Nel razionamento:

- evitare ingredienti a maggior rischio (cotone)
- usare granelle vaporizzate e schiacciate
- formulare razioni che prevedano la sostituzione del mais con altre fonti amilacee (orzo)
- impiegare razioni che ottimizzino la fermentescibilità ruminale
- utilizzare lieviti (che attivano la microflora)
- aggiungere prodotti ad attività adsorbente (carboni, zeoliti e bentoniti) mescolandoli accuratamente alla farina

# LA PREVENZIONE

## Nell'approvvigionamento degli alimenti:

- acquistare granelle (mais) integre e pulite
- ricorrere a fornitori che garantiscono controlli
- effettuare sempre, per i prodotti sfusi, un campionamento allo scarico (campione in contraddittorio)