



MICOTOSSINE

E

MICOTOSSICOSI



MICOTOSSICOSI

“Mykes” (fungo)

“Toksikon” (veleno)

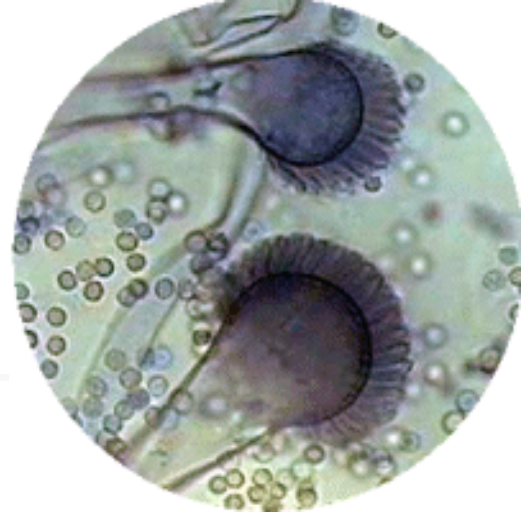
- **Micotossine:** metaboliti secondari prodotti da muffe e funghi durante il loro sviluppo su substrati organici

- **Micotossicosi:** intossicazioni dovute ad ingestione di alimenti contaminati da micotossine

Le micotossine non inducono una risposta immunitaria!



MICOTOSSICOSI



I miceti si sviluppano essenzialmente su foraggi che possono:

- contaminarsi in campo
- **contaminarsi durante il periodo di conservazione**
- **contaminarsi durante il trasporto**



MICOTOSSICOSI

FATTORI PREDISPONENTI LA FORMAZIONE DI MICOTOSSINE

- Umidità dell'ambiente
- Umidità del substrato
- $A_w 0,85 < 0,97$
- T elevate → *Aspergillus*, T basse → *Fusarium*
- Moderne pratiche colturali



MICOTOSSICOSI

| FUNGHI | MICOTOSSINE PRODOTTE |
|--|----------------------------|
| Genere <i>Aspergillus</i> | |
| <i>flavus</i> | Aflatossine B1, B2 |
| <i>parasiticus</i> | Aflatossine B1, B2, G1, G2 |
| <i>ocraceus</i> | Ocratossina |
| <i>clavatus</i> | Patulina |
| Genere <i>Penicillium</i> | |
| <i>verrucosum</i> | Ocratossina |
| <i>rubrum</i> | rubrotossina |
| <i>expansum</i> | Patulina |
| Genere <i>Fusarium</i> | |
| <i>Graminearum, culmorum, poae, sporotrichioides</i> | Tricoteceni, Zearalenone |
| <i>Moniliforme, proliferatum</i> | Fumonisine |
| Genere <i>Claviceps</i> | |
| <i>purpurea</i> | Alcaloidi |



MICOTOSSICOSI

Micotossine più frequentemente causa di intossicazioni negli animali

Aflatossine; Rubratossine; Ocratossine; Zearalenone;
Tricoteceni; Slafranina; Sporidesmina;

Tossine termogeniche;
Stachibotriotossina; Patulina;
Alcaloidi della segale cornuta
(ergotismo); Fumonisine.

| Micotossina | Effetto |
|-----------------|--|
| Aflatossina B1 | Cancerogeno, epatotossico, immunosoppressore |
| Ocratossina A | Nefrotossico, teratogeno, immunosoppressore, cancerogeno |
| Fumonisinina B1 | Neurotossico, cancerogeno, citotossico |
| Tricoteceni | Immunosoppressore, dermatotossico, emorragico |
| Zearalenone | Estrogenosimile |

MICOTOSSICOSI

Alimenti più frequentemente contaminati

- Cereali, semi oleaginosi e frutta secca Aflatossine
- Mais, arachidi e semi di cotone (prodotti a rischio)
- Frutta e succhi (mele, pere e carote) Patulina
- Cereali (mais) Zearalenone e Fumosinine
- Cereali, birra, spezie, cacao e caffè Ocratossina
- Latte e formaggi M1 e M2

.....e prodotti derivati





RIPARTIZIONE TOSSINE

ENDOSPERMA



Ocratossine
DON
Zearalenone

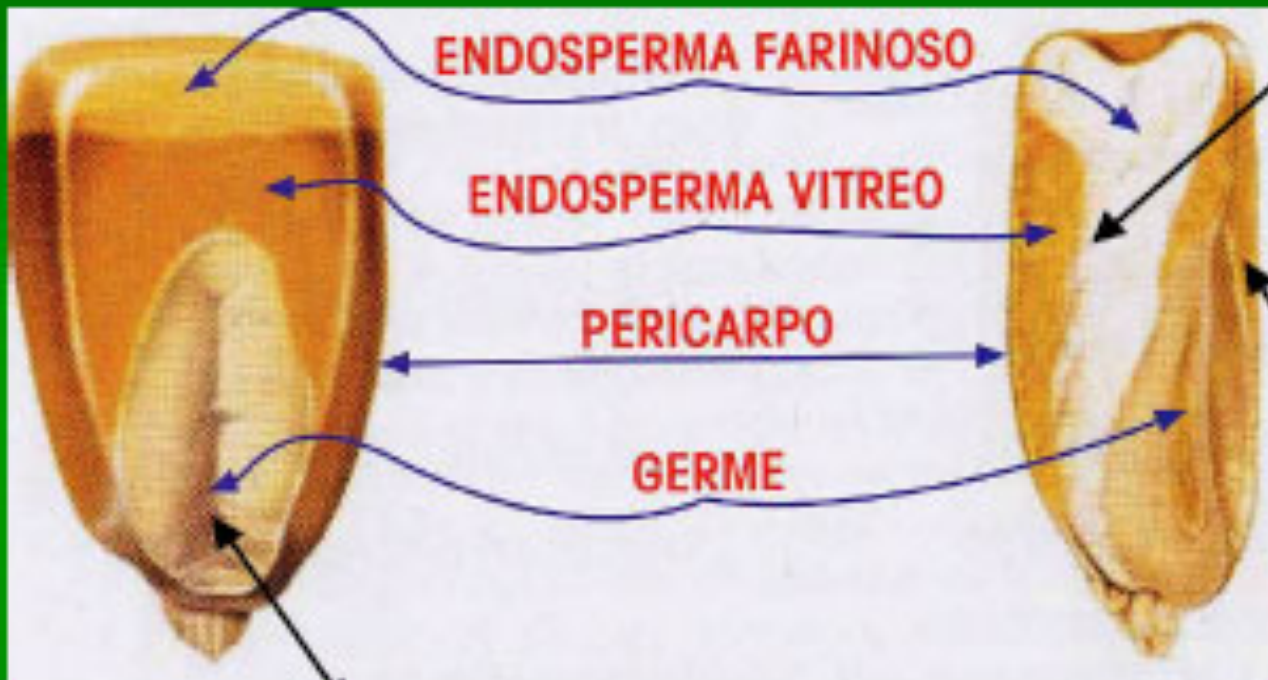
PERICARPO



Fumonisine
Zearalenone

DON

Aflatossine
Ocratossine

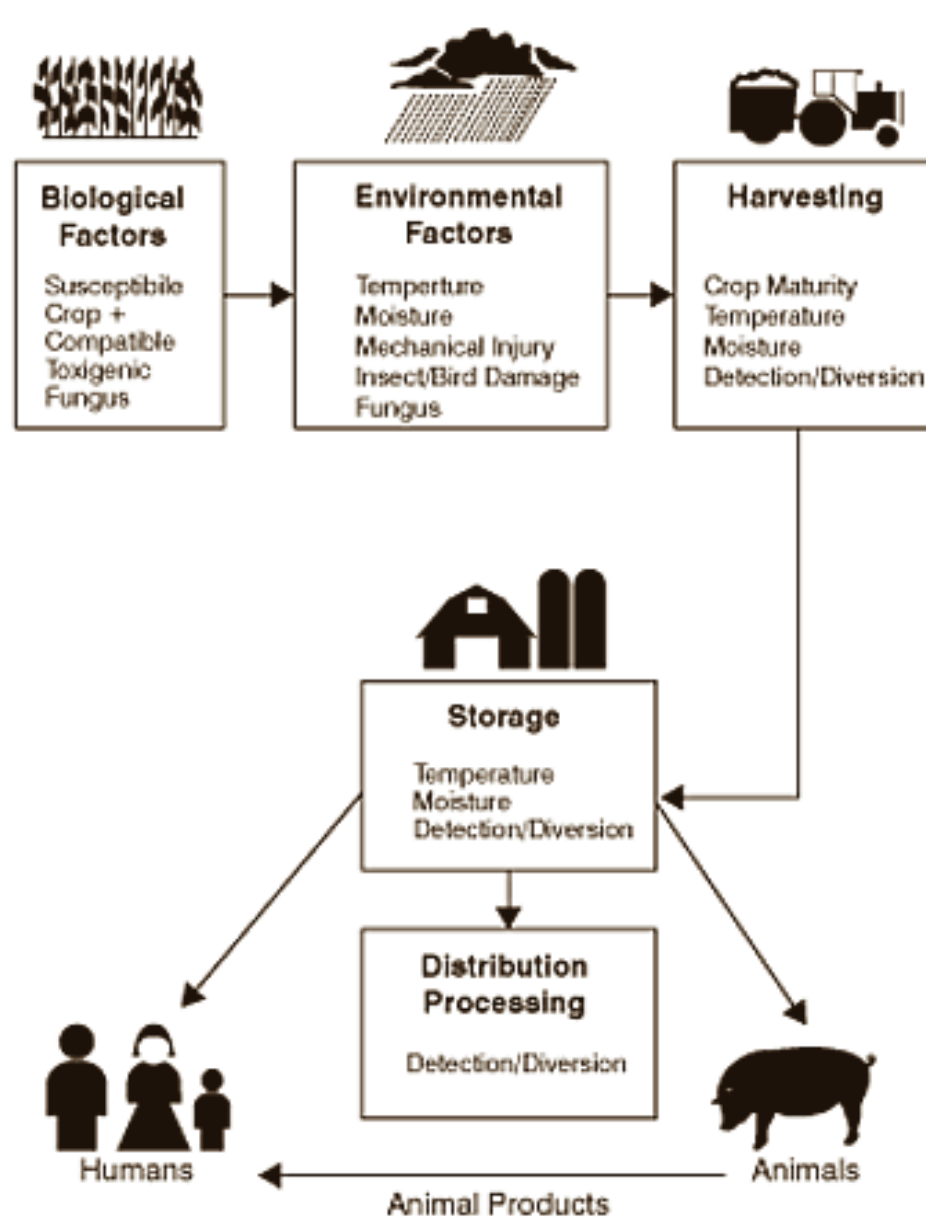


GERME



Aflatossine
Zearalenone

Micotossine nella catena alimentare





MICOTOSSICOSI

2003 → Colpite le zone maidicole in Italia

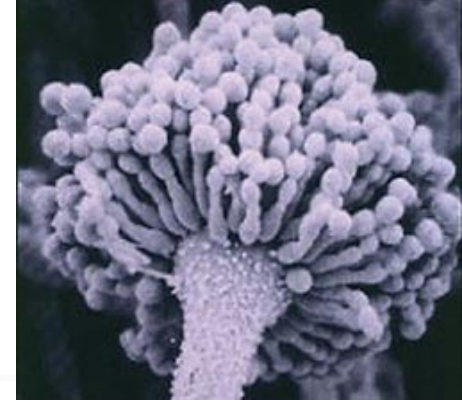
2012 → Nuova contaminazione

**NORMATIVA: OCRATOSSINA A (D.L. 15/5/2006
MINISTERO DELLA SALUTE) E L'AFLATOSSINA B1
(DGLS. 10/5/2004, N. 149 E REGOLAMENTO (UE)
N. 574/2011).**

**PER TUTTE LE RIMANENTI TOSSINE
(FUSARIOTOSSINE) ESISTONO UNICAMENTE, PER
L'ALIMENTAZIONE DEL BESTIAME, VALORI
RACCOMANDATI E QUINDI NON COGENTI**



AFLATOSSINE

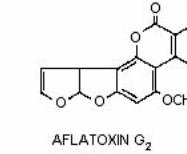
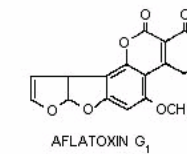
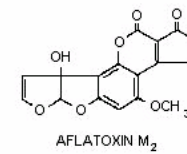
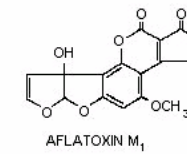
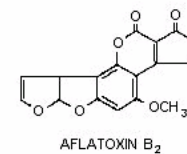
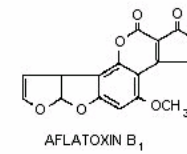


Micotossicosi da Aflatossine: **AFLATOSSICOSI**

- Le Aflatossine sono metaboliti tossici dell'***Aspergillus flavus*** e dell'***Aspergillus parasiticus***. Molti altri miceti sono potenzialmente in grado di produrle e tra questi l'*Aspergillus niger*, *A. ruber*, *A. Wentii*, il *Penicillium citrum* e *P. frequentans*. Questi funghi hanno diffusione ubiquitaria.

AFLATOSSINE

- Sono derivati difuranocumarinici, a basso peso molecolare, alto punto di fusione (269°C per aflatossina B1) ed elevata termostabilità (fino a 250°C). Fra le 18 aflatossine finora isolate cinque sono considerate rilevanti sia per diffusione che per tossicità e sono l'aflatossina B1, l'aflatossina B2, l'aflatossina G1, l'aflatossina G2 e l'aflatossina M1. La quinta aflatossina rilevante è detta M1, prodotto di idrossilazione metabolica dell'aflatossina B1.





AFLATOSSINE

In base alla caratteristica fluorescenza, le aflatossine possono essere divise in B1 e B2 (fluorescenza blu), G1 e G2 (fluorescenza verde)

Chimicamente esse rappresentano:

- **Aflatossina B1**: metossi-difuro-cumarone
- **Aflatossina G1**: metossi-difuro-cumaro-lattone

Le Aflatossine **B2** e **G2** sono i diidroderivati rispettivamente della B1 e G1.

DELLE QUATTRO FORME DI AFLATOSSINE LA PIU' IMPORTANTE E' LA B₁ PERCHE' E' L'UNICA CHE VIENE TRASFORMATA, NELL'ORGANISMO ANIMALE, IN M₁

AFLATOSSINE



Alimenti più frequentemente contaminati da Aflatossine

- Arachidi
- Semi di cotone
- Mais
- Sorgo
- Soia

Produzione di A. più abbondante su substrati ricchi di carboidrati; le fonti di carbonio per la biosintesi di A. sono glucosio, saccarosio e fruttosio. Glicina e acido glutammico sono aa essenziali per la produzione. Zn e Mg sono essenziali, Cd e Fe in miscela stimolano la produzione.



Gli alimenti zootecnici a maggior rischio di contaminazione:

| classe di rischio | ALTO | MEDIO | BASSO |
|-------------------|---|--|--|
| Alimento | Arachidi Pannello di cocco Pannello di lino Mais e derivati (granella, farina, semola, germe) concentrati nuclei | Pastone di mais Insilato di mais Cotone Polpe | Orzo e altri cereali Fieno Soia Crusca |

AFLATOSSINE



- In coltura pura le muffe producono una maggiore quantità di tossine. Granella, farine, mangimi sono substrati da ritenersi più rischiosi. Sui foraggi invece si sviluppano contemporaneamente molte specie di miceti; questo fenomeno riduce la produzione complessiva di aflatossine ed i foraggi sono in effetti meno contaminati.

AFLATOSSINE

Il micete maggiormente chiamato in causa negli episodi di aflatossicosi è l'***Aspergillus flavus***.

I fattori fisici, nutrizionali e biologici influiscono sulla produzione di aflatossine. Condizioni ottimali di crescita:

Valori minimi di A_w per alcuni miceti aflatossinogeni

| MICETE | A_w per la crescita fungina | A_w per la produzione di aflatossine |
|-----------------------|-------------------------------|--|
| <i>A. flavus</i> | 0.78 | 0.84 |
| <i>A. parasiticus</i> | 0.80-0.82 | >0.83 |
| <i>A. ochraceus</i> | 0.77-0.83 | >0.83 |

- pH acido e O_2
- Temperatura: 36–38°C
- Umidità ambientale: 83- 88%
- Per la produzione di tossine la temperatura è più bassa:

24 – 27 °C



AFLATOSSINE

CINETICA

- Rapido **assorbimento** attraverso il tratto gastroenterico
- **Legame** alle albumine plasmatiche
- **Metabolizzazione** a livello epatico
(aflatossicolo, aflatossina Q1, aflatossina M1 ed M2)
- **Eliminazione** attraverso la via biliare, le urine ed il latte

Le aflatossine che nell'ultimo anello furanico possiedono un doppio legame, ovvero B1, G1, M1 ed Aflatossicolo, subiscono una epossidazione a livello epatico diventando così capaci di legarsi stabilmente al DNA.



AFLATOSSINE

TOSSICITA'

DL50 dell'Aflatossina B1 in varie specie animali

| SPECIE | B1 DL50 mg/Kg os |
|---------------|-------------------------|
| Anatroccolo | 0,35 |
| Tacchinotti | 0,45 |
| Pulcino | 1-1,5 |
| Suini | 0,62 |
| Cane | 1-1,5 |
| Pecora | 2 |
| Ratto | 5,5-18 |



AFLATOSSINE

TOSSICITA'

Nell'ambito della stessa specie animale le diverse aflatossine hanno tossicità differente

DL50 delle aflatossine somministrate per os ad anatroccoli di un giorno

| | |
|----|------|
| B1 | 0,36 |
| G1 | 0,80 |
| M1 | 0,80 |
| B2 | 1,70 |
| G2 | 2,50 |
| M2 | 3,10 |

TOSSICITA'

- B1: elevata tossicità. È stata classificata nel gruppo 1B della IARC. Epatocancerogeno.
- Citocromo P-450: bioattivazione ad epossido
- L'AFM1, metabolita idrossilato dell'AFB1, presenta una tossicità acuta confrontabile con quella dell'AFB1, e cronica pari al 2-10%

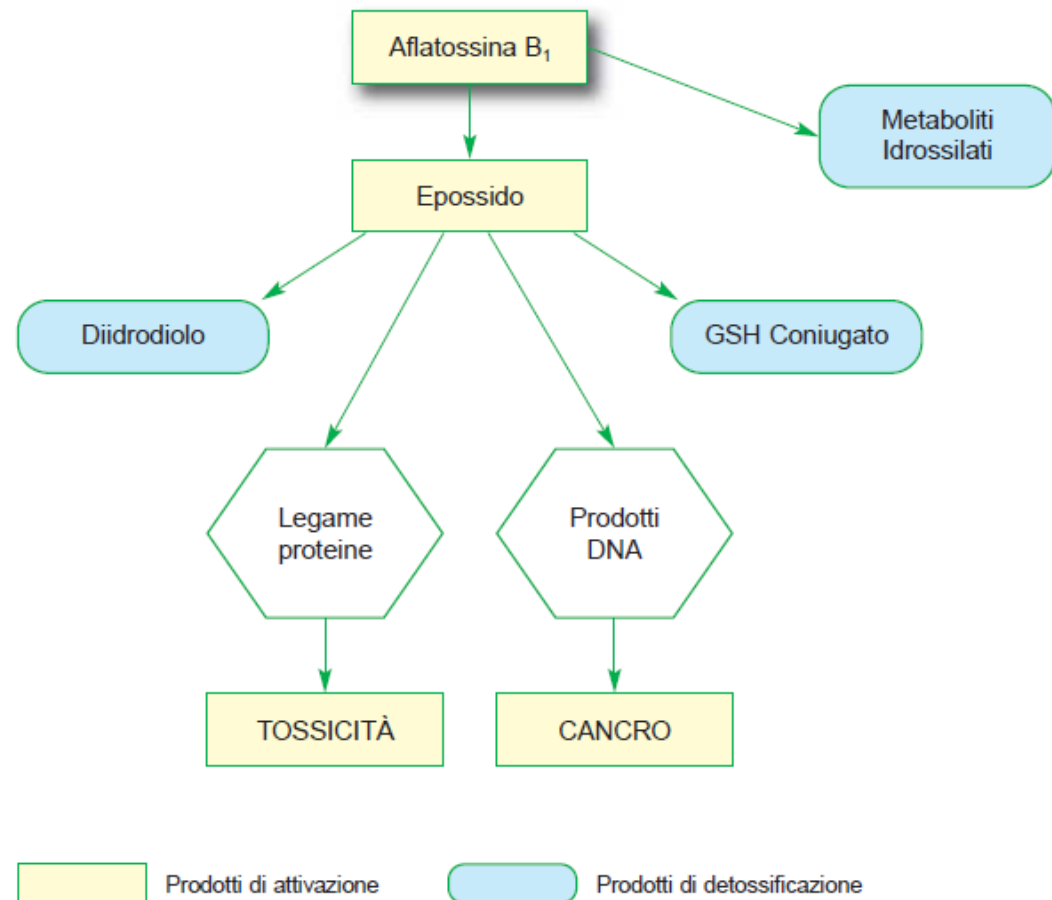


FIGURA 2 - Biotrasformazione dell'aflatossina B₁ (Desphande, 2002).

AFLATOSSINE

MECCANISMO D'AZIONE

EPOSSIDERIVATI (B1-M1):

- Potenti epatocancerogeni
- Teratogeni
- Mutageni

I tumori si osservano principalmente a livello epatico, ma possono essere colpiti anche:

- Rene
- Stomaco
- Colon





AFLATOSSINE

TOSSICITA'

I RUMINANTI SONO MENO SENSIBILI AGLI EFFETTI TOSSICI DELLE AFLATOSSINE

| SPECIE | DT |
|---------------|-----------------------------|
| Bovino | 50-150 mg die x 5 giorni |

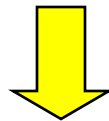
L'assunzione di foraggio contaminato da aflatossine, in concomitanza con altri fattori non definiti, è causa probabilmente di una sindrome chiamata **"malattia da occlusione delle vene"**.



AFLATOSSINE

MECCANISMO D'AZIONE

- **Inibizione della sintesi del DNA** per blocco della trascrizione a livello della RNA polimerasi-DNA dipendente
- **Inibizione della respirazione cellulare** (blocco dei citocromi b-c-c1)



- Alterazione della crescita e moltiplicazione cellulare
- Alterazione della sintesi dei fattori della coagulazione
- Immunosoppressione

AFLATOSSINE

SINTOMATOLOGIA

INTOSSICAZIONE ACUTA:

Sindrome emorragica

- Gastroenterite emorragica
- Melena - ematuria
- Sangue nel latte
- Emorragie petecchiali
- Depressione
- Anemia - ittero
- Dispnea
- Morte x encefalopatia(1-2w)





AFLATOSSINE

SINTOMATOLOGIA

INTOSSICAZIONE CRONICA:

Sintomi meno evidenti

- Anoressia → dimagrimento
- Caduta delle produzioni
- Anemia

Generalmente sono presenti segni di compromissione epatica:

Lesioni di tipo cirrotico con:

- Proliferazione connettivale con occlusione dei dotti biliari
- Fibrosi periportale
- Comparsa di neoplasie



AFLATOSSINE

DIAGNOSI

LA DIAGNOSI DI AFLATOSSICOSI SI DEVE SOSPETTARE QUANDO:

1. Il numero degli animali ammalati è elevato pur mancando indizi presenti di contagiosità
2. Non si riescono ad individuare le cause specifiche delle manifestazioni
3. I trattamenti con antibiotici e con vitamine non abbiano avuto esito positivo
4. L'anamnesi rilevi un rapporto tra alimentazione ed insorgenza della sintomatologia clinica e/o necroscopica
5. Gli alimenti presentano segni evidenti di ammuffimento

LA DIAGNOSI DI CERTEZZA SI OTTIENE ATTRAVERSO IL RILEVAMENTO DELLA MICOTOSSINA NEGLI ALIMENTI



AFLATOSSINE

DIAGNOSI

DIAGNOSI DIFFERENZIALE CON ALTRE MALATTIE CARATTERIZZATE DA SINDROMI EMORRAGICHE

Intossicazioni da:

- Gossipolo
- Intossicazione cronica da Pb
- Anticoagulanti



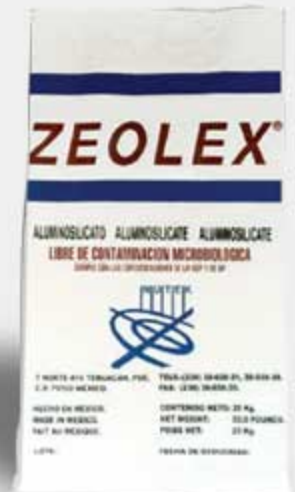
AFLATOSSINE

TERAPIA

**NON ESISTE UNA TERAPIA SPECIFICA PER L'AFLATOSSICOSI,
PER CUI SI INTERVIENE CON UNA TERAPIA SINTOMATICA**

USO DI ADSORBENTI INTESTINALI

- **CARBONI ATTIVI, BENTONITE**
- **ALLUMINOSILICATI**





AFLATOSSINE

PREVENZIONE

IN CAMPO

- VARIETA' DI PIANTE RESISTENTI AI FUNGHI
- EVITARE STRESS ALLE PIANTE (ROTAZIONE COLTURALE, IRRIGAZIONE, LOTTA ANTIPARASSITARIA)
- RAPIDO ESSICAMENTO SUBITO DOPO LA RACCOLTA

STOCCAGGIO

- MANTENIMENTO DELL'ESSICAMENTO
- CONSERVARE I PRODOTTI UMIDI A BASSE T°, O IN atm CONTROLLATA, ANAEROBIOSI, LOTTA CHIMICA (ANTIBIOTICI, FUNGICIDI, FUMIGANTI, ECC.)

LAVORAZIONE

- EVITARE CONDIZIONI TECNOLOGICHE FAVOREVOLI ALLO SVILUPPO DEI FUNGHI (UMIDITA', T°)
- USO DI PRESERVANTI (OLI ESSENZIALI, SPEZIE, ANTIOSSIDANTI, AC. ORGANICI ECC.)
- SCARTO DI INGREDIENTI SOSPETTI

AFLATOSSINE



INTERVENTI CURATIVI SULL'ALIMENTO

FISICA

- RIMOZIONE DELLE PARTI CONTAMINATE(vagliatura)
- STABILI AL CALORE INNATTIVATE A 250° C 0 A 120° C IN AUTOCLAVE PER 30 min

CHIMICA

- DETOSSIFICAZIONE ALCALINA CON AMMONIACA GASSOSA (orzo, mais e sottoprodotti delle oleaginose)
- H₂O₂ (LATTE)
- DETOSSIFICAZIONE CON IDROSSIDO DI Na, Ca, BISOLFITO DI Na METILAMINA, FORMALDEIDE

BIOLOGICA

- FERMENTAZIONE CON LIEVITI
- FLAVOBATTERI (LATTE, OLIO, BURRO)

I limiti massimi tollerabili di aflatossine in prodotti destinati all'alimentazione animale sono riportati nel D.Lgs. 149/2004

| Prodotti destinati all'alimentazione animale | Valore Limite in mg/Kg (tasso di umidità del 12%) |
|--|--|
| Tutte le materie prime per mangimi | 0.02 |
| Mangimi Completi per bovini, ovini e caprini ad eccezione di: | 0.02 |
| - Mangimi Completi per animali da latte | 0.005 |
| - Mangimi Completi per vitelli e agnelli | 0.01 |
| Mangimi Completi per suini e pollame (salvo animali giovani) | 0.02 |
| Altri Mangimi Completi | 0.01 |
| Mangimi Complementari per bovini, ovini e caprini (ad eccezione dei complementari per animali da latte, vitelli e agnelli) | 0.02 |
| Mangimi Complementari per suini e pollame (salvo animali giovani) | 0.02 |
| Altri Mangimi Complementari | 0.005 |

I limiti massimi tollerabili di aflatossine in prodotti destinati all'alimentazione umana sono riportati nel Reg. CE 1881/2006

| Prodotto | B1 | B1+B2+G 1+G2 | M1 |
|---|-----------|-------------------------|-----------|
| Arachidi, frutta a guscio, frutta secca e relativi prodotti derivati destinati al consumo umano diretto | 2 | 4 | |
| Arachidi da sottoporre a cernita | 8 | 15 | |
| Frutta a guscio e frutta secca da sottoporre a cernita | 5 | 10 | |
| Cereali e prodotti derivati eccetto granturco e alimenti per l'infanzia | 2 | 4 | |
| Granturco da sottoporre a cernita | 5 | 10 | |
| Cereali e alimenti per lattanti e bambini | 0.10 | | |
| Alimenti e latte per lattanti | | | 0.025 |
| Latte crudo e trattato termicamente | | | 0.050 |
| Spezie | 5 | 10 | |
| Alimenti dietetici | 0.10 | | 0.025 |

Regolamento 165/2010

ALLEGATO

| Prodotti alimentari ⁽¹⁾ | | Tenori massimi (µg/kg) | | |
|------------------------------------|--|------------------------|--|----------------|
| | | B ₁ | Somma di B ₁ , B ₂ , G ₁ e G ₂ | M ₁ |
| 2.1. | Aflatoxine | | | |
| 2.1.1. | Arachidi e altri semi oleosi ⁽¹⁰⁾ da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari ad eccezione: — delle arachidi e degli altri semi oleosi da sottoporre a pressatura per la produzione di oli vegetali raffinati | 8,0 ⁽⁵⁾ | 15,0 ⁽⁵⁾ | — |
| 2.1.2. | Mandorle, pistacchi e semi di albicocca da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari | 12,0 ⁽⁵⁾ | 15,0 ⁽⁵⁾ | — |
| 2.1.3. | Nocciole e noci del Brasile da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari | 8,0 ⁽⁵⁾ | 15,0 ⁽⁵⁾ | — |
| 2.1.4. | Frutta a guscio, diversa dalla frutta a guscio di cui ai punti 2.1.2 e 2.1.3, da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quale ingrediente di prodotti alimentari | 5,0 ⁽⁵⁾ | 10,0 ⁽⁵⁾ | — |
| 2.1.5. | Arachidi e altri semi oleosi ⁽¹⁰⁾ e relativi prodotti di trasformazione, destinati al consumo umano diretto o all'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari, ad eccezione: — degli oli vegetali crudi destinati alla raffinazione — degli oli vegetali raffinati | 2,0 ⁽⁵⁾ | 4,0 ⁽⁵⁾ | — |
| 2.1.6. | Mandorle, pistacchi e semi di albicocca destinati al consumo umano diretto o all'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari ⁽¹¹⁾ | 8,0 ⁽⁵⁾ | 10,0 ⁽⁵⁾ | — |
| 2.1.7. | Nocciole e noci del Brasile destinate al consumo umano diretto o all'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari ⁽¹¹⁾ | 5,0 ⁽⁵⁾ | 10,0 ⁽⁵⁾ | — |
| 2.1.8. | Frutta a guscio, diversa dalla frutta a guscio di cui ai punti 2.1.6 e 2.1.7, e relativi prodotti di trasformazione, destinati al consumo umano diretto o all'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari | 2,0 ⁽⁵⁾ | 4,0 ⁽⁵⁾ | — |
| 2.1.9. | Frutta secca da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quale ingrediente di prodotti alimentari | 5,0 | 10,0 | — |
| 2.1.10. | Frutta secca e relativi prodotti di trasformazione, destinati al consumo umano diretto o all'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari | 2,0 | 4,0 | — |
| 2.1.11. | Tutti i cereali e loro prodotti derivati, compresi i prodotti trasformati a base di cereali, eccetto i prodotti alimentari di cui ai punti 2.1.12, 2.1.15 e 2.1.17 | 2,0 | 4,0 | — |

| Prodotti alimentari ⁽¹⁾ | | Tenori massimi (µg/kg) | | |
|------------------------------------|---|------------------------|------|--------|
| 2.1.12. | Granturco e riso da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari | 5,0 | 10,0 | — |
| 2.1.13. | Latte crudo ⁽⁶⁾ , latte trattato termicamente e latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte | — | — | 0,050 |
| 2.1.14. | Le seguenti specie di spezie: <i>Capsicum</i> spp. (frutti secchi dello stesso, interi o macinati, compresi peperoncini rossi, peperoncino rosso in polvere, pepe di Caienna e paprica) <i>Piper</i> spp. (frutti dello stesso, compreso il pepe bianco e nero) <i>Myristica fragrans</i> (noce moscata) <i>Zingiber officinale</i> (zenzero) <i>Curcuma longa</i> (curcuma) Miscele di spezie contenenti una o più delle suddette spezie | 5,0 | 10,0 | — |
| 2.1.15. | Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini ⁽³⁾ ⁽⁷⁾ | 0,10 | — | — |
| 2.1.16. | Alimenti per lattanti e alimenti di proseguimento, compresi il latte per lattanti e il latte di proseguimento ⁽⁴⁾ ⁽⁸⁾ | — | — | 0,025 |
| 2.1.17. | Alimenti dietetici a fini medici speciali ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾ destinati specificamente ai lattanti | 0,10 | — | 0,025* |

Aflatossina nel latte

Per effetto cumulativo, l'assunzione di più alimenti con basse contaminazioni può comunque comportare la comparsa di aflatossina nel latte oltre le soglie massime.

La comparsa di aflatossina nel latte è rapida: inizia dopo 4 ore dall'assunzione di alimento contaminato per raggiungere un picco massimo dopo 24 ore.

Con altrettanta rapidità, l'eliminazione della fonte alimentare contaminata determina il calo di aflatossina nel latte entro 3 giorni.



X evitare la contaminazione da A nei prodotti zootecnici prestare attenzione a:

- acquisto di partite di granella di mais (a basso prezzo e quelle provenienti dalle zone maggiormente colpite dalla siccità)
- conservazione aziendale di granella (temperatura e umidità adeguate)
- acquisto di mangimi (indicazioni scritte)
- destinare alle vacche da latte gli insilati ottenuti da trinciature tardive (settembre) e ai capi meno sensibili quelli ottenuti con trinciature precoci (agosto).



AFLATOSSINE

LIMITI DI LEGGE PER LE AFLATOSSINE NEGLI ALIMENTI

| MICOTOSSINA | LIMITE (Ppb) | PRODOTTI | N° NAZIONI |
|----------------------------|-------------------------|--|-----------------------|
| Aflatossina B+G | 5-50 | Mais, arachidi Altri cibi | 53 |
| Aflatossina B+G | 10-1000 | Alimenti x animali | 43 |
| Aflatossina M ₁ | 0.05-0.5 0.01 | Latte, latticini Prodotti x l'infanzia | 15 |

Limiti a confronto: USA/EUROPA

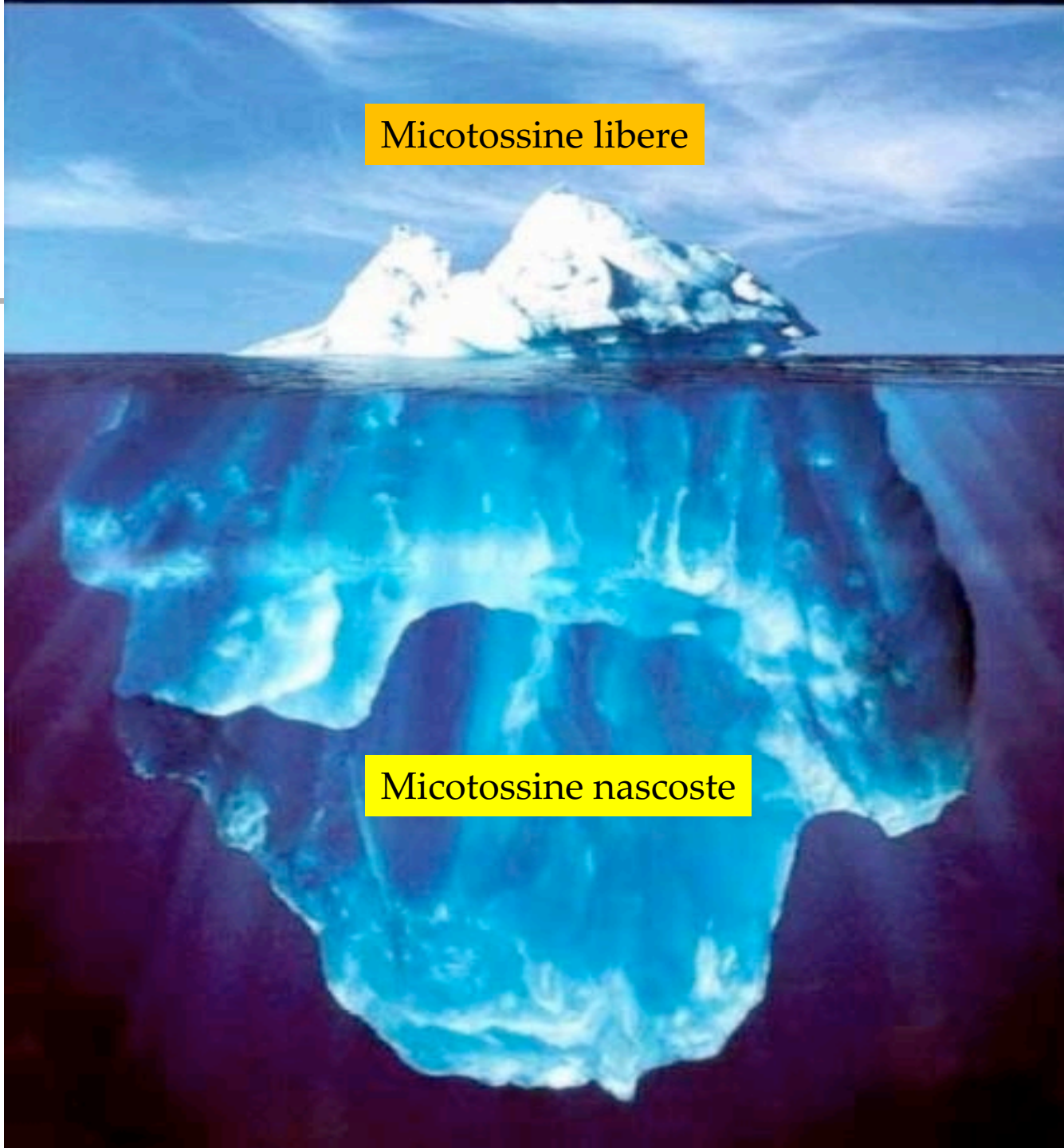
| prodotto | USA (ppb) | Europa (ppb) |
|--------------------------------------|-----------|--------------|
| Latte | 0.5 (M1) | 0.05 (M1) |
| Mais (...) per zootecnia da latte | 20* | 5 |
| Mais (...) per animali giovani | 20* | 10 |
| mais (...) per zootecnia da carne | 100* | 20 |
| mais (...) per suini in finissaggio | 200* | 20 |
| mais (...) per bovini in finissaggio | 300* | 20 |

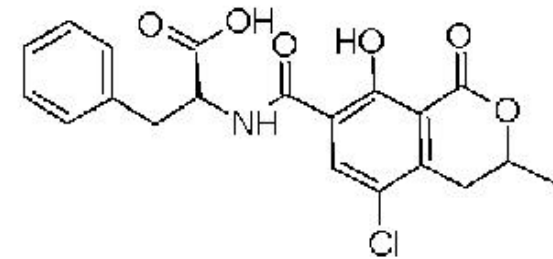
* limiti riportati su Linee guida



Micotossine libere

Micotossine nascoste





OCRATOSSINE

MICOTOSSINA PRODOTTA ***ASPERGILLUS OCRACEUS*** E ***PENICILIUM VERRUCOSUM***

Ocratossina A:



La più tossica

Derivato diidro-idrossicumarinico legato mediante il carbossile 7, con la L-β fenilalanina

Ocratossina B:

Derivato clorurato dell'Ocratossina A

Ocratossina C:

Derivato etilestere dell'Ocratossina A

OCRATOSSINE

Alimenti più frequentemente contaminati da Ocratossine

- Mais
- Riso
- Orzo
- Segale
- Caffè, semi cacao, pepe
- Vegetali in putrefazione





OCRATOSSINE

CONDIZIONI OTTIMALI PER LA CRESCITA E LA PRODUZIONE DI MICOTOSSINE

Aspergillus ocraceus

Temperatura 20 – 30 °C

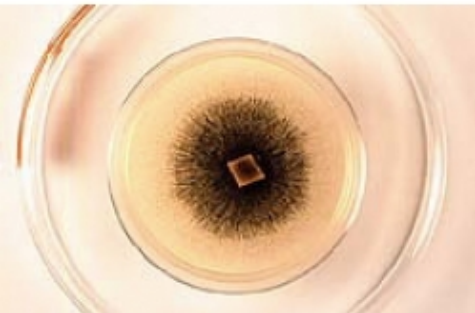
Umidità del substrato 18 – 30 %

Umidità ambientale 70%

Aspergillus verrucosum

Temperature più basse

10 – 25 °C





OCRATOSSINE

MECCANISMO D'AZIONE

1. Inibizione della sintesi proteica con blocco produzione fenilalanina
2. Attivazione di meccanismi di perossidazione lipidica
3. Inibizione produzione di ATP con alterazioni respirazione cellulare

Organo bersaglio: **rene** (tubuli contorti prossimali)

L'ocratossina A risulta embriotossica e teratogena nel ratto e nel topo! IARC gruppo 2B cioè "*possibile agente cancerogeno per l'uomo*"



OCRATOSSINE

TOSSICITA'

LA TOSSICITA' DELL'OCRATOSSINA RISULTA MAGGIORE NEL CANE e SUINO E MINORE NEL BOVINO ED OVINO. I ruminanti la degradano in α ocratossina.

DL50 dell'ocratossina A in varie specie animali

| SPECIE | DL50 mg/Kg os |
|---------------|----------------------|
| Cane | 0,2 |
| Anatroccolo | 0,5 |
| Tacchino | 5,9 |
| Pollo | 3-4 |
| Quaglia | 16,5 |



OCRATOSSINE

TOSSICITA'

| SPECIE | DL |
|---------------|-------------------|
| Suini giovani | 1-2 mg/Kg x 4 die |
| Pecora | 3 mg/Kg x 5 die |

| SPECIE | DT |
|---------------|-----------|
| Bovino | 13 mg/Kg |



OCRATOSSINE

Assorbimento gastro-enterico(soggetta a circolo enteroepatico)

Distribuzione legata alle albumine(elevata permanenza)

Citocromo P450 con formazione di intermedi attivi(cancerogenesi)

Rene(organo bersaglio)- riassorbimento tubuli prox e distali-eliminazione

A dosi elevate anche tossicità epatica

OCRATOSSINE

SINTOMATOLOGIA

Intossicazione acuta, poco frequente

(in suinetti inizio svezzamento dose > 4mg/kg)



- Edema sottocutaneo
- Diarrea emorragica
- Inarcamento del dorso
- Epistassi
- Debolezza e anoressia
- Polipnea
- Dispnea

OCRATOSSINE

SINTOMATOLOGIA

Intossicazione sub/cronica

(in suini all'ingrasso dose
0,2-4mg/kg x3settimane)



- Sintomatologia aspecifica
- Anoressia con scarso accrescimento
- Poliuria-polidipsia \Rightarrow glicosuria-proteinuria
- Effetto immunosoppressivo (> sensibilità alle infezioni)
- fetotossicoteratogeno (passaggio della placenta)
- spermotossico con ridotta vitalità e motilità degli spermatozoi.
- A causa della lunga emivita e dell'accumulo di residui nei reni, l'OTA si può ritrovare nei salumi.

OCRATOSSINE

SINTOMATOLOGIA

Intossicazione acuta

- Anoressia
- Tremori
- Atassia e mortalità

Forma cronica:

- Ritardi nell'accrescimento
- Osteoporosi
- Nefrosi severa con elevato accumulo di urati.
- Residui presenti in reni, fegato e muscolo
- Presenza di residui nelle uova è minimo.





Alterazioni anatomico-patologiche

- **Intossicazione acuta**
- Edema perirenale
- Nefrosi
- Necrosi tubulare
- **Intossicazione cronica**
- Reni di V aumentato
- Reni colore da normale a pallidi
- Presenza di focolai miliari di fibrosi corticale



Somiglianze????

- Nefropatia endemica dei Balcani
- Alterazioni patologiche e sintomatologia nei suini molto simili a quelle riportate nei soggetti affetti da questa malattia.
- Elevata incidenza di tumori del tratto urinario e della pelvi



OCRATOSSINE

LIMITI DI LEGGE PER LE OCRATOSSINE NEGLI ALIMENTI

Reg. CE n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di Ocratossina A:

5 ppb (0,005 $\mu\text{g}/\text{kg}$) per i cereali non lavorati

3 ppb (0,003 $\mu\text{g}/\text{kg}$) per i prodotti derivati dai cereali.

Reg. CE n. 1881/2006

| | | |
|--------|---|---------------------|
| 2.2 | Ocratossina A | |
| 2.2.1 | Cereali non trasformati | 5,0 |
| 2.2.2 | Tutti i prodotti derivati dai cereali non trasformati, compresi i prodotti trasformati a base di cereali e i cereali destinati al consumo umano diretto, eccetto i prodotti alimentari di cui ai punti 2.2.9 e 2.2.10 | 3,0 |
| 2.2.3 | Uve secche (uve di Corinto, uva passa, uva sultanina) | 10,0 |
| 2.2.4 | Caffè torrefatto in grani e caffè torrefatto macinato, escluso il caffè solubile | 5,0 |
| 2.2.5 | Caffè solubile (istantaneo) | 10,0 |
| 2.2.6 | Vini (compreso il vino spumante ed esclusi i vini liquorosi e i vini con un titolo alcolometrico non inferiore al 15 % vol) e vini di frutta ⁽¹⁾ | 2,0 ⁽¹²⁾ |
| 2.2.7 | Vini aromatizzati, bevande aromatizzate a base di vino e cocktail aromatizzati di prodotti vitivinicoli ⁽¹³⁾ | 2,0 ⁽¹²⁾ |
| 2.2.8 | Succo d'uva, succo d'uva concentrato ricostituito, nettare d'uva, mosto d'uva e mosto d'uva concentrato ricostituito, destinati al consumo umano diretto ⁽¹⁴⁾ | 2,0 ⁽¹²⁾ |
| 2.2.9 | Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini ⁽⁵⁾ ⁽⁷⁾ | 0,50 |
| 2.2.10 | Alimenti dietetici a fini medici speciali ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾ destinati specificamente ai lattanti | 0,50 |
| 2.2.11 | Caffè crudo, frutta secca diversa dalle uve secche, birra, cacao e prodotti a base di cacao, vini liquorosi, prodotti a base di carne, spezie e liquirizia | — |

Limite massimo di Ocratossina A negli alimenti per animali (D.M. 15/05/2006)

| Ocratossina | | mg/kg (ppm) riferiti a mangimi con un contenuto di umidita' del 12% |
|--|---|---|
| Materie prime per mangimi | cereali e prodotti derivati dai cereali | 0.25 |
| Mangimi completi e complementari e razione giornaliera | suini | 0.05 |
| | pollame | 0.1 |



OCRATOSSINE

VALUTAZIONE DEL RISCHIO PER LE OCRATOSSINE NEGLI ALIMENTI

| MICOTOSSINA | VALORI JEFCA |
|--------------------|---------------------|
| Ocratossina A | 0.1 ppb settimana |



Misure di prevenzione

Poiché la micotossina è prodotta da funghi di stoccaggio, durante la conservazione dei cereali, specialmente nei silos, molta attenzione deve essere posta sul controllo dell'umidità (che non deve essere superiore al 18%) e della temperatura (più elevata temperatura aumenta la respirazione delle granaglie e, quindi, il vapore acqueo). Mantenere la temperatura più bassa possibile, provvedere ad essiccare le granaglie ed eseguire procedure di pulizia (prima o dopo lo stoccaggio) in modo da separare le granaglie diverse, rotte, più piccole oppure frammenti di pianta o paglia.

TOSSINE PRODOTTE DAI FUSARIA



**TRICOTECENI
FUMONISINE
ZEARALENONE (F2)**

TRICOTECENI



**PIU' DI 100 TOSSINE. PRINCIPALI TOSSINE
DISTINTE IN 2 GRUPPI:**

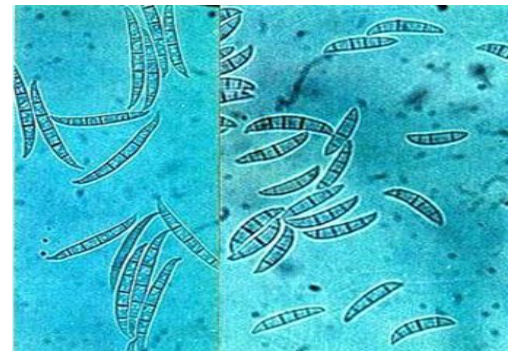
GRUPPO A (>TOSSICITA')

- **T2**
- HT-2
- AcetilT2
- Diacetossilscirpenolo (DAS)
- Neosolaniolo (NEO)

GRUPPO B

- **Desossinivalenolo (DON)**
- Nivalenolo (NIV)
- Acetildon
- Fusarenone X

FONTI



- **TRICOTECENI: GRUPPO A**

Fusarium sporotrichioides

Fusarium langsethiae

Fusarium poae

Fusarium equiseti

- **TRICOTECENI DEL GRUPPO B**

F. Graminearum e *F. culmorum*

- **Parassitano CEREALI:** grano, mais, orzo, segale, avena, miglio in campo.... così come paglia e fieno e nelle fasi di conservazione (anche insilati) e di stoccaggio.



TRICOTECENI

I FUNGHI PRODUTTORI DI TRICOTECENI SONO UBIQUITARI E PREDILIGONO SUBSTRATI MOLTO UMIDI

•Condizioni ottimali per la crescita e la produzione di tossine:

T°: 20-22 °C

: 4-10 °C

AW: 30%

Umidità ambientale: **70%**

Loro presenza associata a periodi di piogge eccessive e umidi

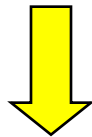


TRICOTECENI: TOSSICOCINETICA

- **Assorbimento rapido** a livello enterico, sono **distribuiti** soprattutto nei tessuti ed organi ricchi di lipidi.
- Vengono **metabolizzati rapidamente(2/3gg)** a livello epatico ed **escreti** con le urine, la bile ed il latte.
- Nel caso del DON, la micotossina non viene metabolizzata e viene eliminata totalmente tramite le feci e le urine non creando problemi di residui nelle carni.
- DON si può ritrovare inalterato nei prodotti da forno (termoresistenza)

TRICOTECENI: MECCANISMO D'AZIONE

- **Inibizione** dell'incorporazione della Timidina nel DNA e della Leucina nelle proteine.
- **Inibizione** della Peptidil-Transferasi.
- **Blocco** della sintesi proteica per legame al ribosoma 80s e **disaggregazione** dei poliribosomi.
- T2 e DAS forte azione dermatossica ed emorragica



DANNI CELLULARI: alterazione della mitosi, picnosi nucleare, soprattutto a carico dei tessuti a rapido accrescimento come linfonodi, timo, midollo osseo, milza ed intestino.



TRICOTECENI DI TIPO A

TOSSICODINAMICA

- I Tricoteceni provocano, inoltre, **dermatiti da contatto**.
- T2 e DAS sono **teratogeni, embriotossici** ed **immunosoppressivi**.
- La tossina T2 **aumenta la permeabilità capillare** ed è **epatotossica** (necrosi e diminuzione della coagulabilità).



TRICOTECENI

TOSSICITA'

ANIMALI PIU' SENSIBILI:

- Cavallo
- Gatto
- **Suino**
- Tacchino
- **Pollo**

SPECIE MENO SENSIBILI

- Bovino
- Ovino



TRICOTECENI: GRUPPO A

SINDROME EMORRAGICA

- Dermatiti mucose orali e del tratto digerente
- Gastroenteriti emorragiche
- Leucopenia con immunodepressione
- LEUCOPENIA TOSSICA ALIMENTARE segnalata nell'europa orientale. Nausea, vomito, lesioni cavo orale, gastroenteriti, infezioni secondarie con mortalità fino all'80%



TRICOTECENI: GRUPPO B

SINDROME EMETICA (spt DON)

- Vomito
- Dermatiti
- Disturbi nervosi
- Leucopenia
- Emorragia

T-2/DON

- Suino è la **specie più sensibile** e, dopo ingestione, manifesta rifiuto del cibo con gravi conseguenze sulle performance di accrescimento
- Vomito
- Paresi del treno posteriore
- Calo ovodeposizione
- Arrossamento della mucosa boccale
- Difficoltà respiratoria e morte.
- All'autopsia si osservano emorragie al miocardio e intestino.
- Effetti sulla riproduzione (zearalenone) determinando aborti e nascita di suinetti mummificati per passaggio attraverso la placenta.





Zearalenone – ZEA – o micotossina F-2

- Micotossina ad attività estrogenica.
- Lattone dell'acido resorcilico fenolico
- ZEA agisce come agonista per gli estrogeni (recettori per il 17β -estradiolo). Viene metabolizzato dal fegato, dalla mucosa gastrointestinale, dagli eritrociti o dai batteri intestinali in α -zeararenolo e β -zeararenolo. Questa reazione metabolica varia notevolmente a seconda della specie animale (maggiore nella scrofa).
- L'attività di legame per il recettore degli estrogeni dell'utero di ratto è maggiore per α -zeararenolo.



TRICOTECENI

LESIONI ANATOMO-PATOLOGICHE

- Erosioni del cavo orale e del tratto gastro-enterico.
- Emorragie: sottocute, sierose, miocardio, polmone
- Necrosi epatica e renale
- Aplasia del midollo osseo
- Nel pollo si trova materiale caseoso sulla superficie dei visceri addominali.
- Nelle ovaiole diminuzione dell'ovodeposizione

TRICOTECENI LIMITI *Reg. CE n. 1881/2006* e successive modifiche

Prodotti alimentari ⁽¹⁾

Tenori massimi (µg/kg)

| *2.4 | Deossivalenolo ⁽¹⁷⁾ | |
|-------|--|-----------------------|
| 2.4.1 | Cereali non trasformati ⁽¹⁸⁾ ⁽¹⁹⁾ diversi da grano duro, avena e granoturco | 1 250 |
| 2.4.2 | Grano duro e avena non trasformati ⁽¹⁸⁾ ⁽¹⁹⁾ | 1 750 |
| 2.4.3 | Granoturco non trasformato ⁽¹⁸⁾ , ad eccezione del granturco non trasformato destinato alla molitura ad umido (*) | 1 750 ⁽²⁰⁾ |
| 2.4.4 | Cereali destinati al consumo umano diretto, farina di cereali, crusca e germe come prodotto finito commercializzato per il consumo umano diretto, eccetto i prodotti alimentari di cui ai punti 2.4.7, 2.4.8 e 2.4.9 | 750 |
| 2.4.5 | Pasta (secca) ⁽²²⁾ | 750 |
| 2.4.6 | Pane (compresi piccoli prodotti da forno), prodotti della pasticceria, biscotteria, merende a base di cereali e cereali da colazione | 500 |
| 2.4.7 | Alimenti a base di cereali trasformati e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini ⁽³⁾ (?) | 200 |
| 2.4.8 | Frazioni della molitura del granturco di dimensioni > 500 micron di cui al codice NC 1103 13 o 1103 20 40 e altri prodotti della molitura del granturco non destinati al consumo umano diretto di dimensioni > 500 micron di cui al codice NC 1904 10 10 | 750 ⁽²⁰⁾ |
| 2.4.9 | Frazioni della molitura del granturco di dimensioni ≤ 500 micron di cui al codice NC 1102 20 e altri prodotti della molitura del granturco non destinati al consumo umano diretto di dimensioni ≤ 500 micron di cui al codice NC 1904 10 10 | 1 250 ⁽²⁰⁾ |

FUMONISINE



Le **fumonisine** sono un gruppo di micotossine prodotte da funghi del genere *Fusarium* ed in particolare dal *Fusarium moniliforme e proliferantum*

Contamina prevalentemente:

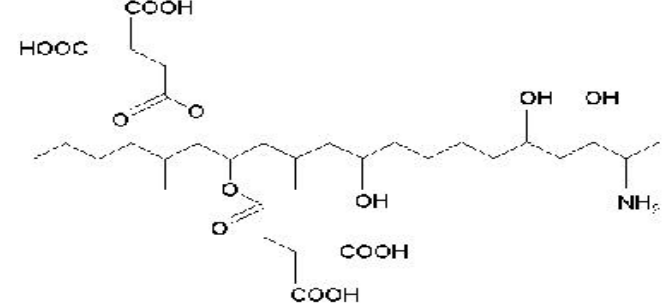
- **MAIS e derivati**

Più raramente...

- **SORGO e MIGLIO**

L'alimentazione con prodotti a base di cereali, in particolare grano e mais, rappresenta, la principale fonte di assunzione della tossina per l'uomo (Asia, Cina, Nord-Italia) nel quale vi è il sospetto che possa causare tumore all'esofago. IARC ha classificato la fumonina B1 nel Gruppo 2B, cioè come "possibile agente cancerogeno per l'uomo".

FUMONISINE



Sono stati identificati **28 tipi di fumonisine**. La più frequentemente reperibile sia nelle colture di *Fusarium moniliforme* che nei substrati naturalmente contaminati è la **fumonisina B1 (<B2 e B3)**

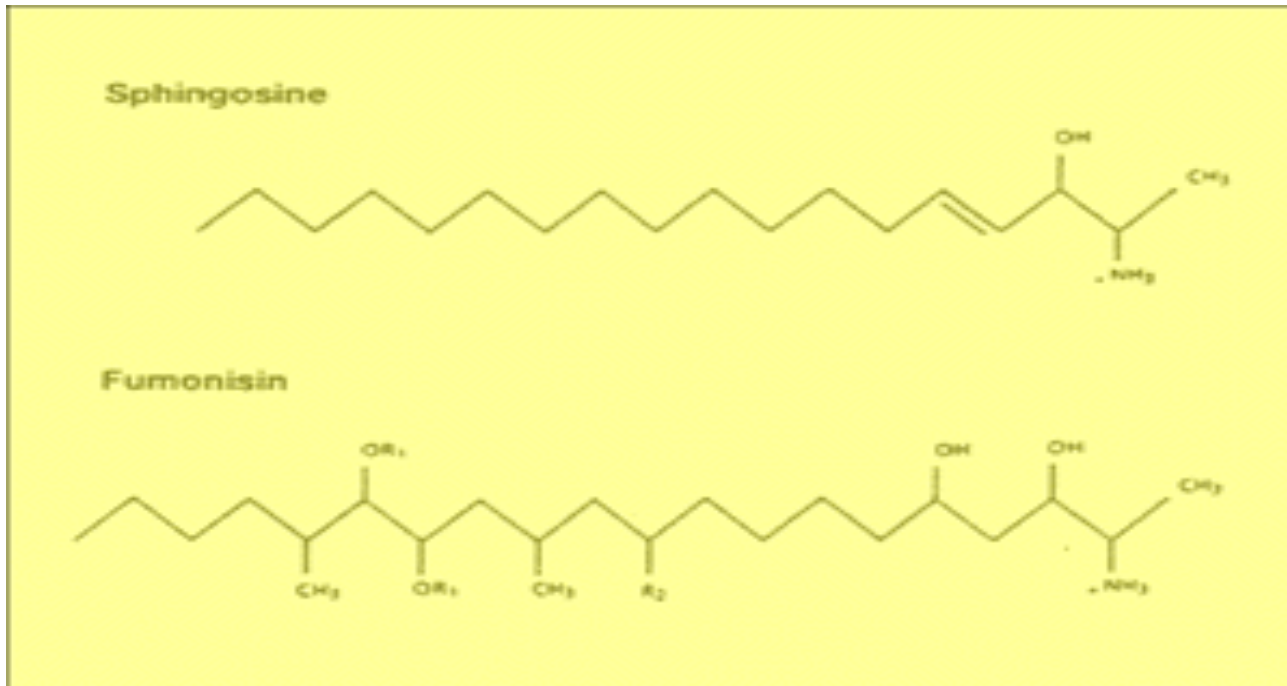
Sono composti idrosolubili e termostabili

La massima produzione di tossina si riscontra ponendo una coltura di *Fusarium moniliforme* ad una temperatura di **20° C**. del tutto ininfluyente risulta l'umidità ambientale sullo sviluppo dei miceti così come sulla produzione della tossina (Le Bars et al., 1993)

FUMONISINE

MECCANISMO D'AZIONE

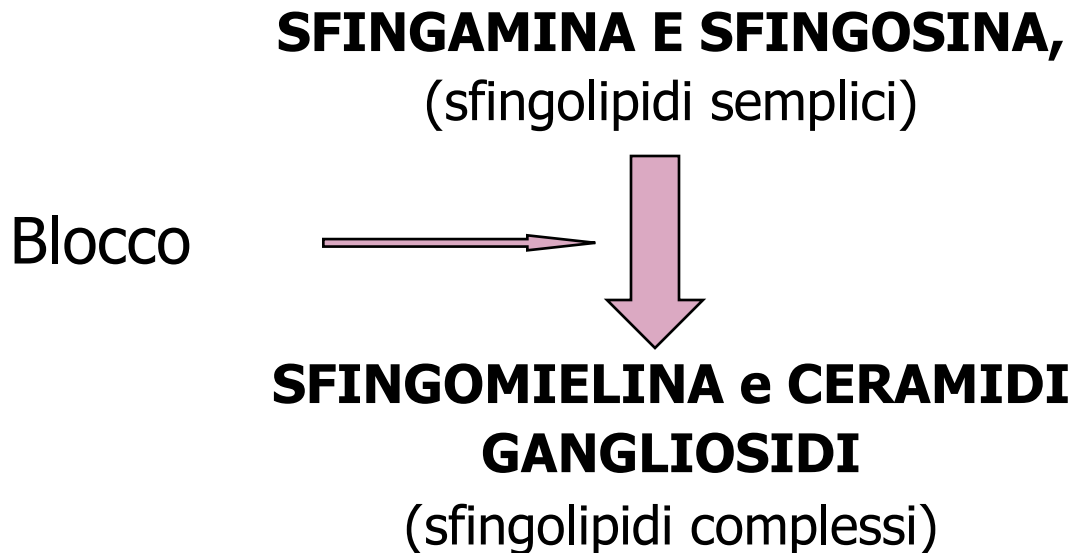
Chimicamente le fumonisine sono diesteri di acidi tricarbossilici e quindi sono molto simili alla sfingosina. Inibitori competitivi del metabolismo e della sintesi degli sfingolipidi.



FUMONISINE

MECCANISMO D'AZIONE

Inibitori degli enzimi implicati nella conversione della sfingosina e sfingamina in ceramidi. Sfingosina importante x sviluppo, differenziazione, permeabilità e apoptosi cellulare



FUMONISINE

... le fumonisine riconoscono come sito d'azione la **sfingosina** e **sfinganina N-acetiltransferasi** e la **ceramide sintetasi** quando questo si combina con sfingosina e sfingamina a formare ceramide o diiroceramide

Fumonisin Inhibition of Sphingolipid Biosynthesis

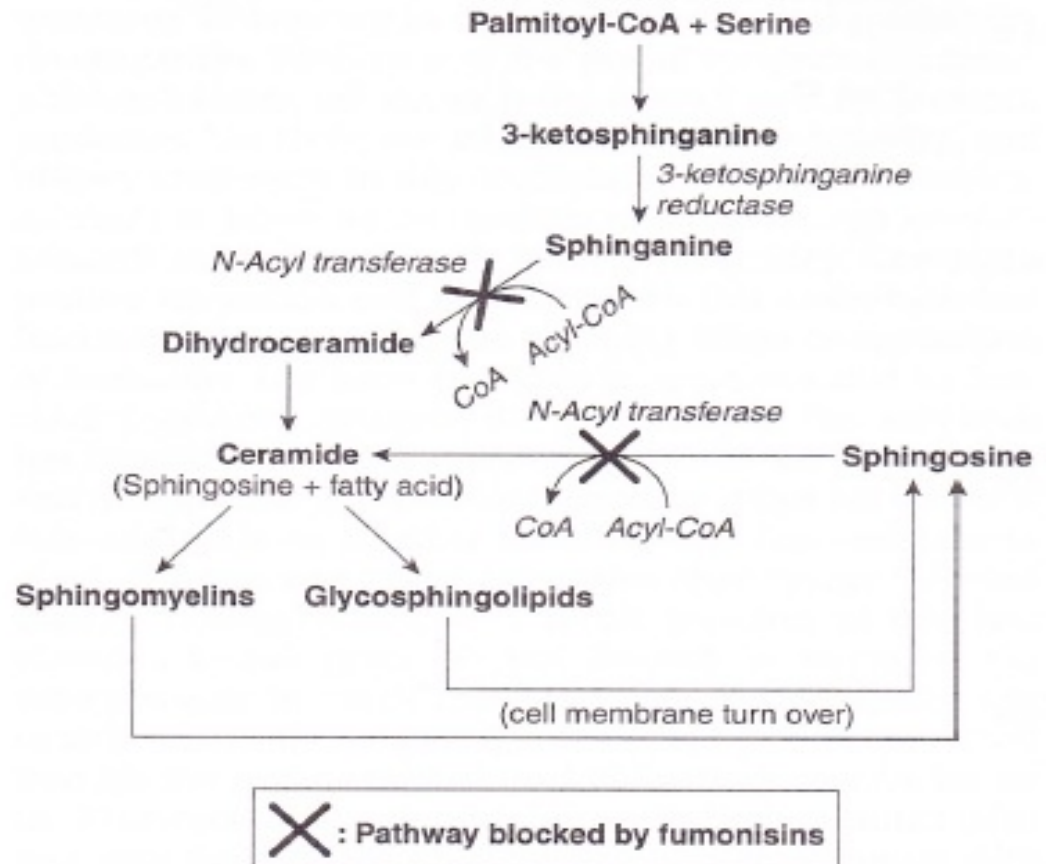


Fig. 23-4 The effect of fumonisin on the sphingolipid biosynthetic pathway.



FUMONISINE

NE CONSEGUE:

- Una deplezione degli sfingolipidi complessi
- Una inibizione della sintesi degli stessi
- Un incremento dei prodotti di degradazione
- Aumento del rapporto sfinganina/sfingosina (*biomarker SA/SO*) da valutare nel siero



FUMONISINE: 2 micotossicosi

LEUCOENCEFALOMALACIA NELL'EQUINO

Caratterizzata da **necrosi colliquativa** della materia bianca degli emisferi cerebrali

Mortalità elevata preceduta da una breve sintomatologia letargica e anoressica con depressione del sensorio, paralisi facciale e cecità

In letteratura sono stati descritti casi di morte improvvisa senza sintomatologia. Patogenesi incerta, tossicità cardiocircolatoria?



Limite massimo consentito per mangimi destinati ai cavalli: **5 ppm**

FUMONISINE



EDEMA POLMONARE NEL SUINO

Intossicazione **subacuta** caratterizzata da edema polmonare

I segni clinici sono caratterizzati da attacchi di **dispnea, astenia, cianosi e morte** poche ore dopo l'inizio dei sintomi respiratori

Edema secondario alla tossicità cardiovascolare della fumonisina?
La fumonisina B1 induce anche effetto citotossico dei macrofagi alveolari e alterata attività fagocitaria.

Limite massimo di fumonisina consentito nei mangimi per suini:
50 ppm

Specie aviarie molto resistenti: ridotto incremento ponderale, diarrea, epatomegalia, immunosoppressione



REGOLAMENTO (CE) N. 1126/2007 DELLA COMMISSIONE

del 28 settembre 2007

che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari per quanto riguarda le *Fusarium*-tossine nel granoturco e nei prodotti a base di granoturco

| | Prodotti alimentari ⁽¹⁾ | Tenori massimi ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|-------|--|--|
| 2.6 | Fumonisine | Somma di B ₁ e B ₂ |
| 2.6.1 | Granoturco non trasformato ⁽¹⁸⁾ , ad eccezione del granoturco non trasformato destinato alla molitura ad umido ^(*) | 4 000 ⁽²³⁾ |
| 2.6.2 | Granoturco destinato al consumo umano diretto, prodotti a base di granoturco destinati al consumo umano diretto, ad eccezione degli alimenti elencati ai punti 2.6.3 e 2.6.4 | 1 000 ⁽²³⁾ |
| 2.6.3 | Cereali da colazione e merende a base di granoturco | 800 ⁽²³⁾ |
| 2.6.4 | Alimenti a base di granoturco trasformato e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini ⁽³⁾ ⁽⁷⁾ | 200 ⁽²³⁾ |
| 2.6.5 | Frazioni della molitura del granoturco di dimensioni > 500 micron di cui al codice NC 1103 13 o 1103 20 40 e altri prodotti della molitura del granoturco non destinati al consumo umano diretto di dimensioni > 500 micron di cui al codice NC 1904 10 10 | 1 400 ⁽²³⁾ |
| 2.6.6 | Frazioni della molitura del granoturco di dimensioni \leq 500 micron di cui al codice NC 1102 20 e altri prodotti della molitura del granoturco non destinati al consumo umano diretto di dimensioni \leq 500 micron di cui al codice NC 1904 10 10 | 2 000 ⁽²³⁾ |

Raccomandazione 2006/576/CE del 17 agosto 2006.

Raccomandazione della Commissione del 17 agosto 2006 sulla presenza di deossinivalenolo, zearalenone, ocratossina A, tossine T-2 e HT-2 e fumonisine in prodotti destinati all'alimentazione degli animali.

(pubbl. in *Gazz. Uff.* dell'Unione europea n. L 229 del 23 agosto 2006).

| Micotossina | Prodotti destinati all'alimentazione degli animali | Valore di riferimento in mg/kg (ppm) di mangime al tasso di umidità del 12 % |
|--------------------|---|--|
| Fumonisine B1 + B2 | Materie prime per mangimi (*) | |
| | — Granoturco e prodotti derivati (***) | 60 |
| | Mangimi complementari e completi per: | |
| | — suini, equini (Equidi), conigli e animali da compagnia, | 5 |
| | — pesci, | 10 |
| | — pollame, vitelli (< 4 mesi), agnelli e capretti, | 20 |
| | — ruminanti adulti (> 4 mesi) e visoni | 50 |

(*) Nel caso dei cereali e prodotti a base di cereali somministrati direttamente agli animali occorre prestare particolare attenzione a che il loro utilizzo nella razione giornaliera non comporti un'esposizione degli animali a tali micotossine superiore a quella che comporterebbe una razione giornaliera composta esclusivamente da mangimi completi.

(**) I termini «Cereali e prodotti derivati» non si riferiscono unicamente alle materie prime per mangimi di cui alla voce 1 «Cereali, loro prodotti e sottoprodotti» dell'elenco non esclusivo delle principali materie prime di cui all'allegato, parte B, della direttiva 96/25/CE del Consiglio, del 29 aprile 1996 relativa alla circolazione e all'utilizzo di materie prime per mangimi (GU L 125 del 23.5.1996, pag. 35) ma anche ad altre materie prime a base di cereali usate nei mangimi, in particolare foraggi, compresi foraggi grossolani.

(***) I termini «Granoturco e prodotti derivati» non si riferiscono unicamente alle materie prime per mangimi di cui alla voce 1 «Cereali, loro prodotti e sottoprodotti» dell'elenco non esclusivo delle principali materie prime di cui all'allegato, parte B, della direttiva 96/25/CE, ma anche ad altre materie prime a base di granturco usate nei mangimi, in particolare foraggi, compresi foraggi grossolani



Misure di controllo

Ridurre l'esposizione degli animali:

- pratiche agronomiche (quali la lotta alla piralide e l'utilizzo di varietà resistenti alla contaminazione fungina) finalizzate a ridurre la contaminazione in campo
- pulizia e cernita dei cereali che determinano una cospicua riduzione dei livelli di micotossina in quanto le fusariotossine si accumulano prevalentemente nelle porzioni superficiali delle cariossidi, quali la crusca.