

Tossicologia dei contaminanti Abiotici
Contaminanti nei prodotti alimentari
Reg. 1881/2006
Aflatossine, ocratossine e altre
micotossine

Prof. Michele Amorena
Ordinario di Farmacologia e Tossicologia Veterinaria

Allarme micotossine

Ottobre 2003: in Lombardia su 5043 campioni di latte analizzato e provenienti da 4500 allevamenti, il 17% presentava livelli di aflatossina M₁ superiori ai limiti di legge.

Novembre 2003: il 51% degli allevamenti produce latte con tenori di Aflatossina M₁ superiori ai limiti di legge.

Gennaio 2004: nonostante le misure attuate, gli allevamenti "fuori legge" sono circa il 16%.

Marzo 2016. Si ritorna a parlare di micotossine in questo caso DON

- La crescita di microfunghi (muffe) provoca diverse alterazioni del substrato

Nelle derrate alimentari:

odori sgradevoli causati da diversi enzimi quali lipasi, proteasi ecc., alterazione del colore

- Una delle più importanti alterazioni è la formazione di MICOTOSSINE

- Alcune specie fungine contaminano le derrate in campo, altre durante lo stoccaggio

Funghi di campo

Fusarium culmorum

F. graminearum

F. avenaceum

Alternaria alternata

A. infectoria

Cladosporium herbarum

Claviceps purpurea

Funghi di stoccaggio

P. cyclopium

P. freii

P. hordeii

P. polonicum

P. verrucosum

P. aurantiogriseum

P. viridicatum

Aspergillus flavus,

A. parasiticus

Eurotium sp.

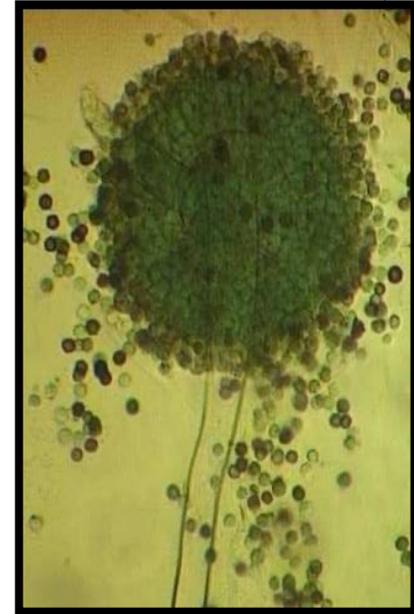
A. parasiticus



Penicillium verrucosum



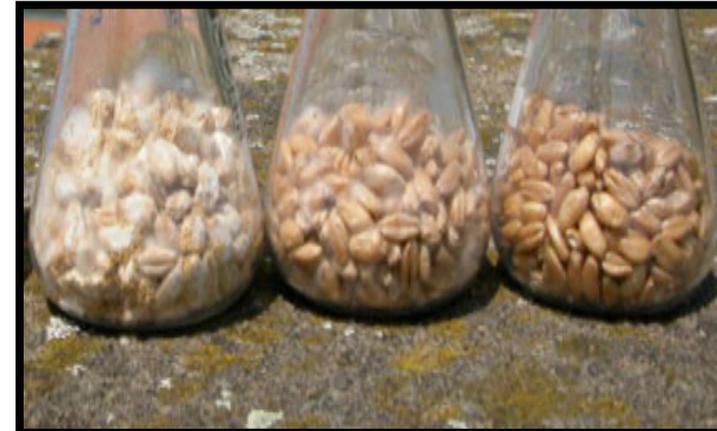
A. carbonarius



P. expansum



A. ochraceus



Micotossine

- Metaboliti secondari prodotti da alcuni generi fungini (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* per es.) tossici in basse concentrazioni per i vertebrati (Samson, 1996)
- Il ruolo ecologico di molte di esse è ancora poco chiaro

- Le micotossine possono avere un effetto dannoso a breve e/o a lungo termine sulle strutture cellulari e quindi sugli organi e sugli apparati
- Tra gli effetti tossici più importanti figurano:
 - l'induzione di alcuni tipi di tumore
 - l'indebolimento del sistema immunitario
- *Si ritiene che il 40% dei decessi nei paesi in via di sviluppo può essere collegato al consumo di derrate contaminate da micotossine*

- Una derrata può essere contaminata da più specie fungine con presenza simultanea di diverse micotossine
- L'effetto cumulativo può essere diverso da quello osservato per ciascuna tossina singolarmente

Micotossine e micotossicosi

Micotossine	Fungo produttore	Principali effetti tossici	Alimenti contaminati
Aflatossine -B1, B2, G1, G2, -M1, M2	Flavus, Parasiticus, Aspergillus Spp. Metaboliti	Epatiti, Nefriti, Tumori	Arachidi ed altre leguminose, mais ed altri cereali, semi oleosi, noci e mandorle Latte e suoi derivati
Zearalenoni -zearalenone -zearalenolo	F. roseum, F. Tricinatum F. moniliforme, Fusarium spp.	Iperestrogenismo, ipofertilità	Mais ed altri cereali
Ocratossine -ocratossina A -ocratossina B	Aspergillus ocraceus, Penicillium viridicatum, Aspergillus spp. Penicillium spp.	Nefriti Epatiti	Orzo, mais ed altri cereali Pane, pasta ed altri prodotti da forno
Tricoteceni -tossina T2 -deossinilvalenolo -diacetossiscirpenolo -nivalenolo	F. rosum, F. solani, F. Tricinatum ed altri Fusarium spp.	Emorragie, leucopenie, Disturbi nervosi Vomito e rifiuto del cibo	Mais, orzo ed altri cereali

MICOTOSSINE NEL LATTE

Micotossina	Metaboliti rinvenuti nel latte
Deossivalenolo	DOM-1, DON, DON glucuron-coniugato
Ocratossina	OTA e OTa
Zearalenone	ZEAA, ZEAB, ZEL, ZEA glucuron-coniugato
Aflatossina B ₁	AFM ₁ (AFB ₁ latte di bufala)

Generalità sulle micotossine

Quando può verificarsi la contaminazione del foraggio?

- Durante la produzione
- Durante il trasporto
- Durante lo stoccaggio

La crescita dei miceti produttori di micotossine è strettamente correlata:

- All'umidità dell'ambiente
- Temperatura ambientale
- Umidità del substrato (A_w)

Generalità sulle Aflatossine

Tossine prodotte dal genere *Aspergillus flavus* e *parassiticus*

Questi miceti si sviluppano principalmente su:

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

Condizioni ottimali per lo sviluppo del micete	Condizioni ottimali per la produzione di micotossine
<i>Temperatura:</i> 36-38 ° C	<i>Temperatura:</i> 24-27 ° C
<i>AW:</i> 30%	<i>AW:</i> 30 %
<i>Umidità ambientale:</i> 85%	<i>Umidità ambientale:</i> 80 %

Generalità sulle Aflatossine

Tossicità

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

Tossicità bovini

Concentrazione nella razione	Tipo di bestiame	Effetti
>100 ppb	Bovini da ingrasso	Livello tossico
300/400 ppb	Vacche da latte adulte	Nessun effetto visibile
600/800 ppb		Ridotta prod. Latte
2400/3100		Ridotto consumo cibo e prod. latte
600/800 ppb	Manze	Ridotti consumi e casi di morte
150/200 ppb	Vitelli	Ridotti consumi e lesioni epatiche
450/600 ppb		Morte

Generalità sulle Aflatossine

Cinetica

Ingestione per **os**



Rapidamente assorbite attraverso il tratto gastroenterico



Legame alle albumine



Metabolizzazione a livello epatico



Escrezione attraverso bile, urine e **latte**

Le Aflatossine, a livello epatico, possono essere metabolizzati a 2,3-epossiderivati → ***cancerogenicità***

Trasferimento delle aflatossine dall'alimento (B_1) al latte (M_1)

Il tasso di trasferimento è di: 55:1

Esempio

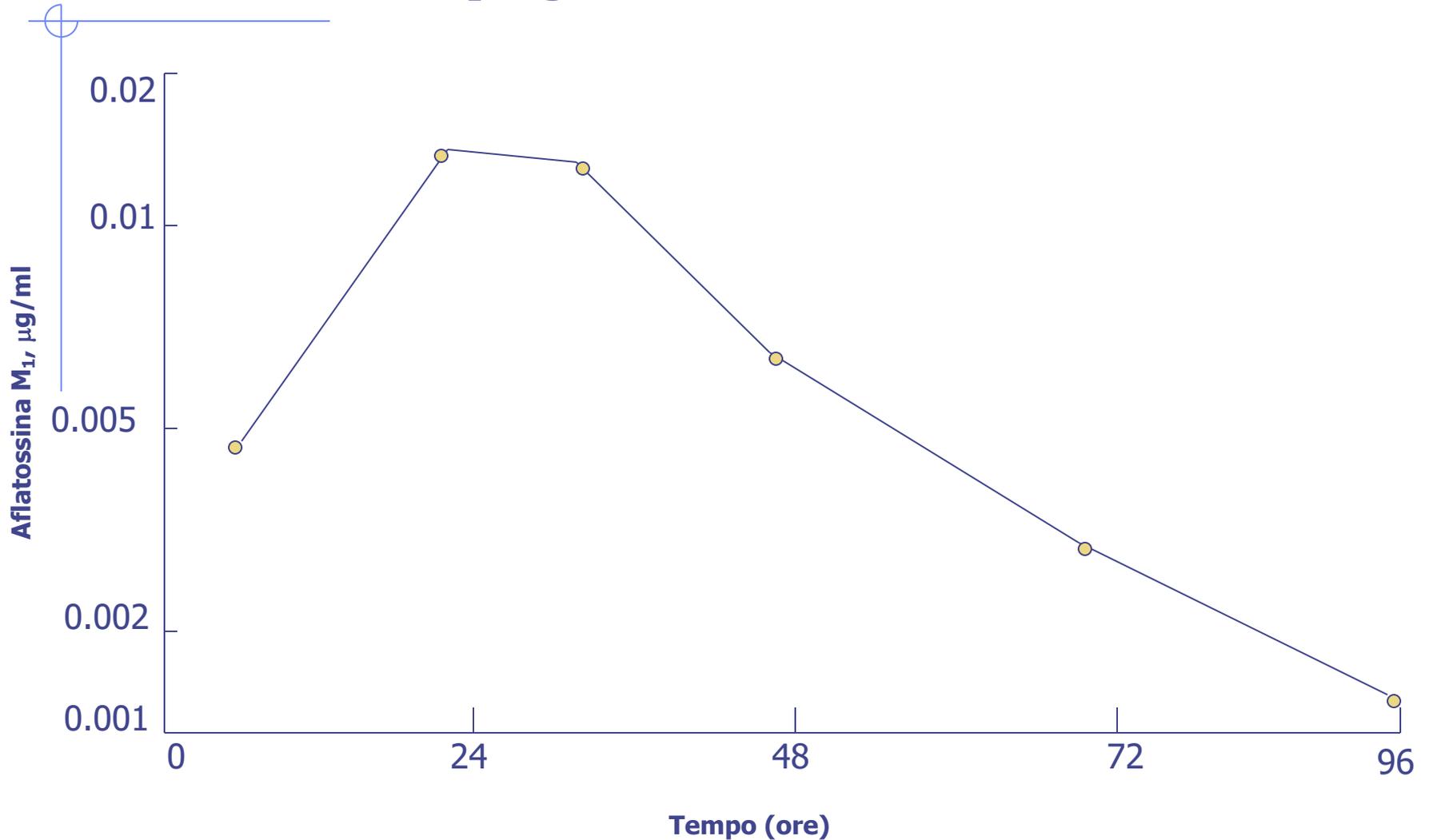
Se si considera un'ingestione media di 20 Kg/s.s. per capo ed una produzione di 25 Kg di latte e definito il limite massimo di legge in 0,05 ppb, allora si dovrà avere:

- Il contenuto di M_1 in 25 Kg di latte = 1,25 μg
- Il contenuto di B_1 nella dieta = $1,25 \times 55 = 68,75 \mu\text{g}$
- La concentrazione di B_1 nella dieta = $68,75 \mu\text{g}/20\text{Kg} = 3,44 \text{ ppb s.s.}$

Di conseguenza il limite di legge per gli alimenti destinati agli animali da latte è di 5 ppb.

- Il limite è più alto nei suini (20 ppb) e per i bovini da carne (50 ppb)

Escrezione dell'aflatossina M1 nel latte in relazione all'aflatossina B₁ ingerita

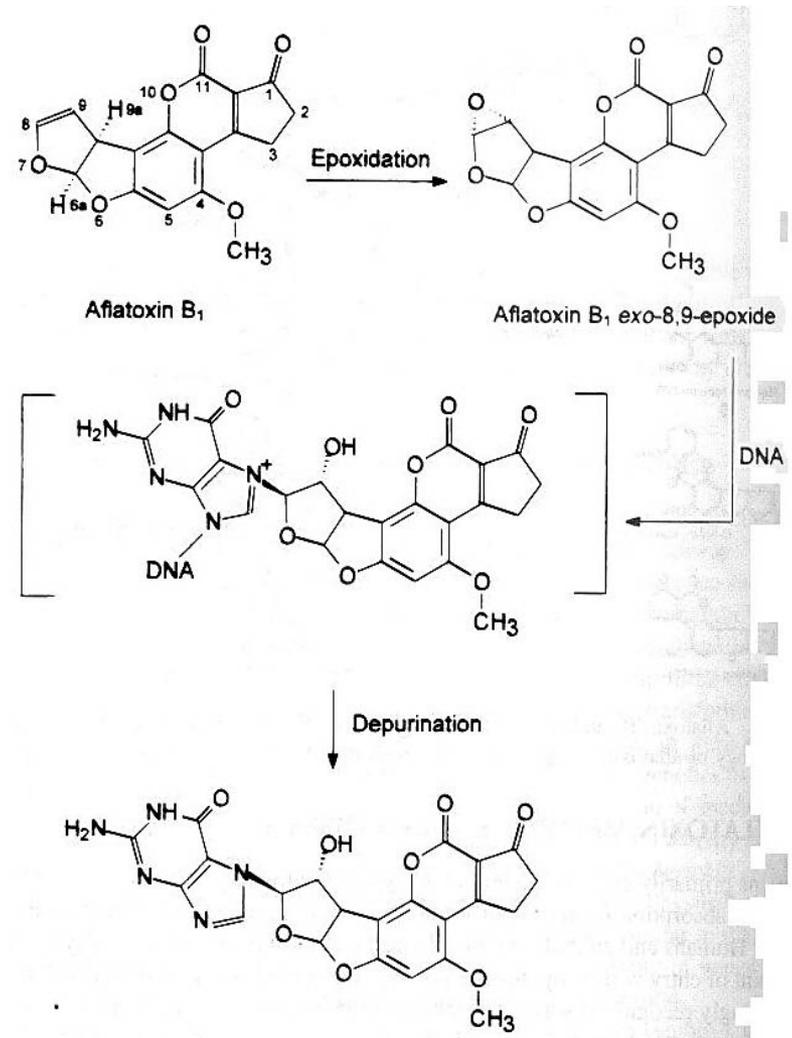


Le aflatossine – meccanismo d'azione

◆ Dopo l'ingestione, l'AFB₁ viene attivata dal citocromo P450 formando un epossido in grado di legarsi alle basi puriniche, inducendo in questo modo genotossicità e citotossicità

◆ Cancerogeno per gli animali e l'uomo, organo target: fegato

◆ **Limite UE: Cereali e loro prodotti destinati al consumo umano:**
2 µg/Kg (Solo B₁); 4 µg/Kg (B₁+B₂+G₁+G₂).



Generalità sulle Aflatossine

Meccanismo d'azione

Inibizione della sintesi del DNA

Inibizione della respirazione cellulare

Legame stabile dei 2,3-epossidoderivati al DNA

Sintomatologia

Intossicazione acuta	Intossicazione cronica
Sindrome emorragica	Anoressia
Depressione	Anemia ± marcata
Anoressia	Dimagrimento
Anemia	Perdita delle produzioni zootecniche
Dispnea	Neoplasie
Melena	-

Generalità sulle Ocratossine

Tossine prodotte dal genere *Aspergillus ocraceus* e *Penicillium viridicatum*

Questi miceti si sviluppano principalmente su:

- Mais
- Riso
- Orzo
- Segale
- Vegetali in putrefazione

Condizioni ottimali per lo sviluppo del micete e la produzione di tossine
<i>Temperatura:</i> 20-30 ° C
<i>AW:</i> 18-30 %
<i>Umidità ambientale:</i> 70 %

Generalità sulle Ocratossine

Tossicità

Specie	B1 DL50 mg/KG os
Anatroccolo	0,5
Tacchino	5,9
Pollo	3-4
Quaglia	16,5
Suini giovani	1-2 mg/Kg x 4 gg
Pecora	3 mg/Kg x 5 gg

Tossicità bovini

Bovino	DT
	13 mg/Kg

Generalità sulle Ocratossine

Meccanismo d'azione

- Inibizione della carbossipeptidasi con conseguente alterazione della sintesi proteica e anomalie morfoilologiche

Sintomatologia

Organo bersaglio: **rene**

- Negli animali adulti la sintomatologia è poco evidente e la funzionalità renale viene per lo più mantenuta
- Nei soggetti giovani la sintomatologia è acuta  ***nefropatia micotossica***

Generalità sullo Zearalenone

Tossine prodotte dal genere *Fusarium roseum* *Giberella zeae*

Questi miceti si sviluppano principalmente su:

- Mais
- Riso
- Orzo
- Grano

Condizioni ottimali per lo sviluppo del micete e la produzione di tossine
<i>Temperatura:</i> 20-25 ° C
<i>AW:</i> 18-20 %
<i>Umidità ambientale:</i> 70 %

Generalità sullo Zearalenone

Cinetica

Ingestione per os



Rapidamente assorbite attraverso il tratto gastroenterico



Metabolizzazione a livello epatico



Escrezione per via renale

A livello epatico si formano due metaboliti: ***a-zearalenolo*** (metabolita attivo) e b-zearalenolo

Generalità sullo Zearalenone

Meccanismo d'azione

- Attività similestrogenica (legame ai recettori per gli estrogeni)

Tossicità

- il **SUINO** è la specie più sensibile

Sintomatologia

Maschi	Femmine
Ingrossamento del prepuzio	Edema della vulva, capezzoli e mammelle
Ingrossamento delle ghiandole mammarie	Prolasso della vagina
-	Aborti

Generalità sui Tricoteceni

Tossine prodotte dal genere *Fusaria*, *Stachybotris*, *Cefalosporia*

Questi miceti si sviluppano principalmente su:

- Mais
- Grano

Condizioni ottimali per lo sviluppo del micete e la produzione di tossine
<i>Temperatura:</i> 20-22 ° C
<i>AW:</i> 30 %
<i>Umidità ambientale:</i> 70 %

Generalità sui Tricoteceni

Cinetica

Ingestione per **os**



Rapidamente assorbite attraverso il tratto gastroenterico



Distribuzione nei tessuti e organi ricchi in lipidi



Metabolizzazione a livello epatico



Escreti attraverso urine, bile e **latte**.

A livello epatico si originano metaboliti quali la tossina T₂, Diacetoswsiscirpenolo, Nivalenolo, ecc.

Generalità sui Tricoteceni

Meccanismo d'azione

- Inibizione dell'incorporazione della timidina nel DNA
- Inibizione dell'incorporazione della leucina nelle proteine
- Disaggregazione dei poliribosomi
- Blocco della sintesi proteica
- La **TOSSINA T₂** risulta embriotossica ed immunosoppressiva

Tossicità

- Maggiormente sensibili il cavallo, gatto e suino
- Più resistenti il bovino e l'ovino

Sintomatologia acuta	Sintomatologia cronica
Debolezza, tremori, polipnea, dispnea, epistassi, diarrea emorragica	Aspecifica