

***CONTAMINANTI E PRODUZIONI ZOOTECNICHE***

---

# **Il problema aflatossine negli alimenti di origine animale**

**Barbara De Santis**

Reparto Sicurezza Chimica degli Alimenti

Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

Istituto Superiore di Sanità



# Il Problema Aflatossine negli Alimenti di Origine Animale

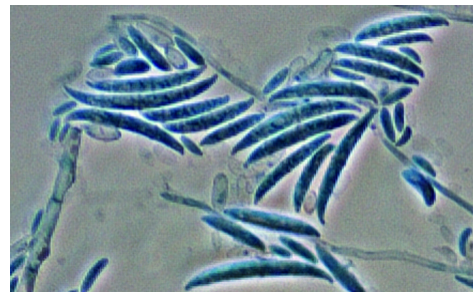
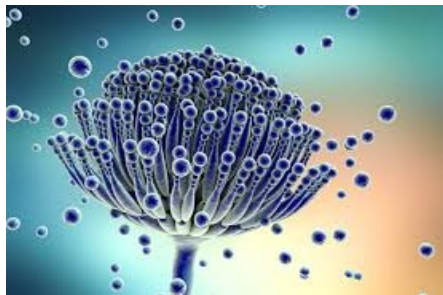
## AFLATOSSINE

- contaminanti naturali
  - la tossicità
    - i dati
  - la normativa
- il controllo (piani nazionali, il campionamento)



# MICOTOSSINE

Le micotossine sono composti a basso peso molecolare prodotti dal metabolismo secondario di funghi filamentosi (muffe)



*Aspergillus, Penicillium e Fusarium*



- ✓ **Clima**
- ✓ **Stress idrico**
- ✓ **Squilibrio nutrizionale**



- ✓ **Trasporto**
- ✓ **Stoccaggio**
- ✓ **Lavorazione**



# MICOTOSSINE

## Feedstuff Commonly Contaminated w/ Mycotoxins

 Corn	 Wheat	 Peanuts	 Rice	 Oats
 Animal feed	 Tree nuts	 Rice bran	 Barley	 Wheat midds
 Pumpkin seeds	 Coconut	 Beet pulp	 Hay	 Cottonseed
 Soybean meal	 Sorghum	 Figs	 Rotten apples	 Forage

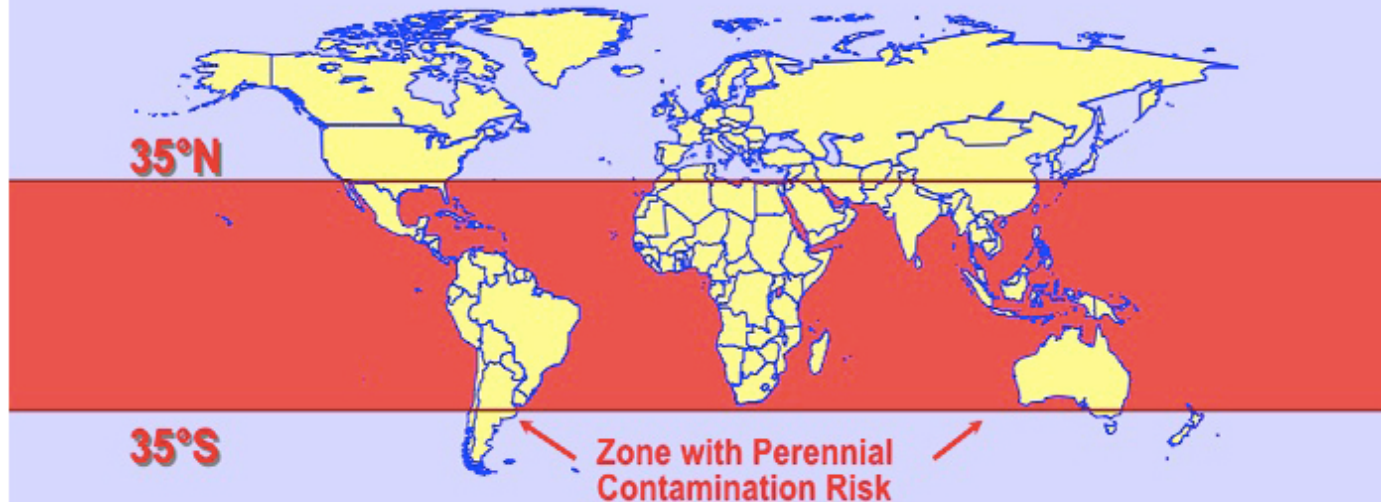
**Mais, cereali in granella**  
**Arachidi, frutta a guscio**  
**Semi Oleaginosi**  
**Riso**  
**Fichi, Frutta secca**  
**Semi di zucca**  
**Panelli di Cocco**  
**Polpa di barbabietola**  
**Semi di Cotone**  
**Foraggio, Fieno**  
**Soia**



# PROBLEMA AFLATOSSINE

## Aflatoxin Contamination: A Perennial Concern in Warm Climates

Contamination is most severe at low elevations and during dry periods. During drought the zone with contamination expands.



<https://cals.arizona.edu/research/cottylab/research/epidemiology/epidemiology.html>



# PROBLEMA AFLATOSSINE

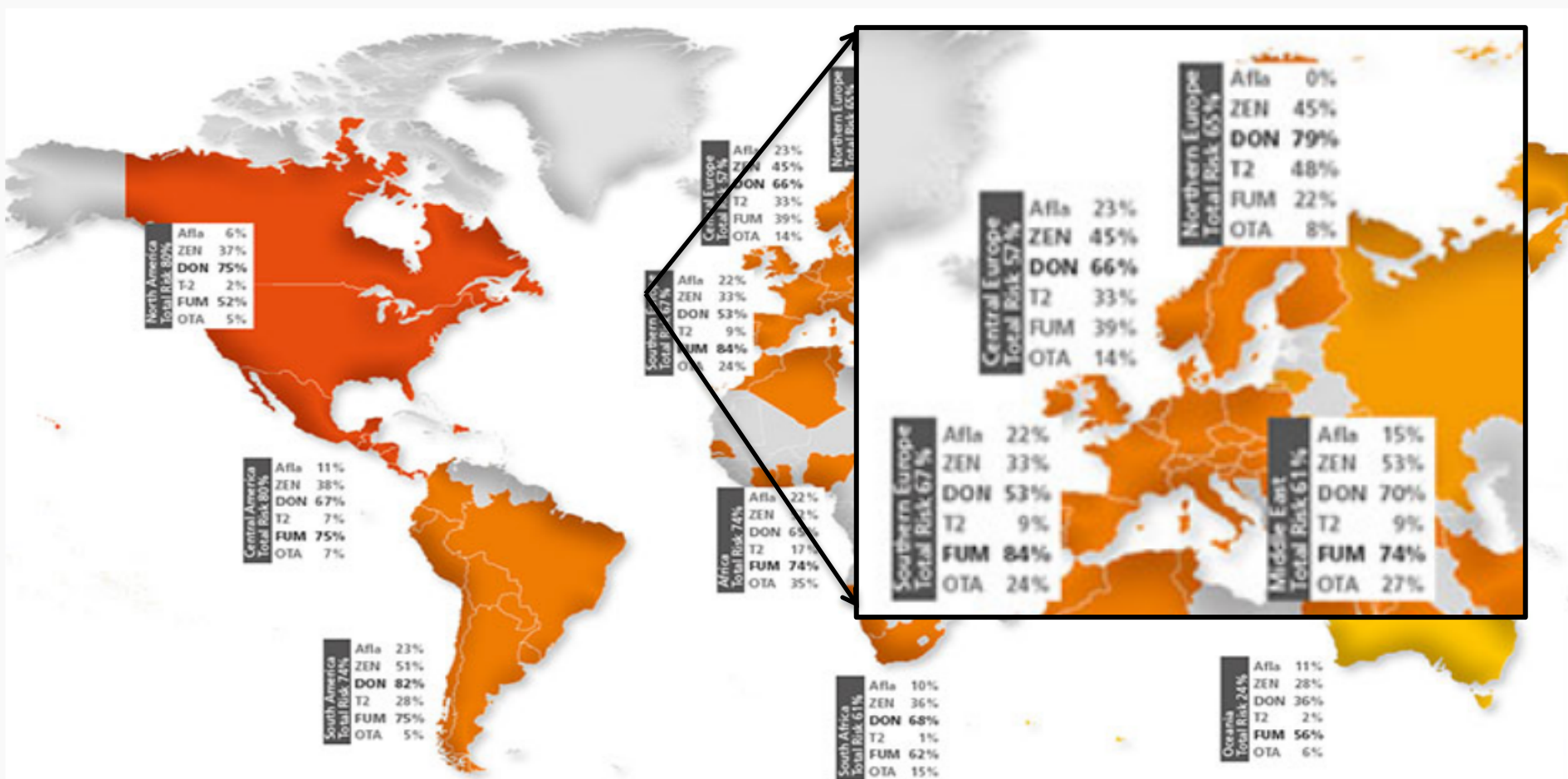


Figure 1. Global map of mycotoxin occurrence and risk in different regions.

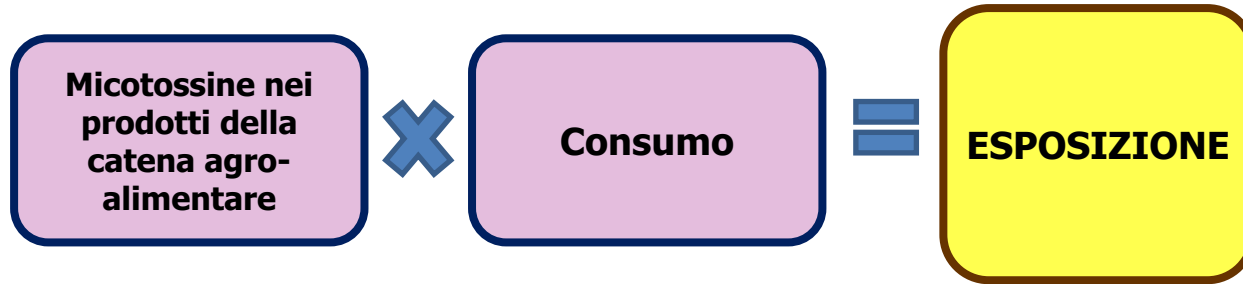
## Legend

- Moderate risk: 0-25% of samples above risk threshold
- High risk: 26-50% of samples above risk threshold
- Severe risk: 51-75% of samples above risk threshold
- Extreme risk: 76-100% of samples above risk threshold
- No samples tested



# MICOTOSSINE

L'esposizione alle micotossine avviene principalmente con la **DIETA**



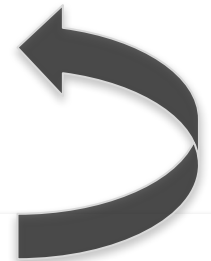
## DIRETTAMENTE CONTAMINATI

- ❖ Materia prima (cereali, semi oleaginosi)
- ✓ alimentazione umana
- ✓ animale

- ❖ Prodotti processati (pane, pasta, olio di semi, spezie, biscotti, birra, vino)

## INDIRETTAMENTE CONTAMINATI

- ❖ Latte
- ❖ Formaggio
- ❖ Carne
- ❖ Uova

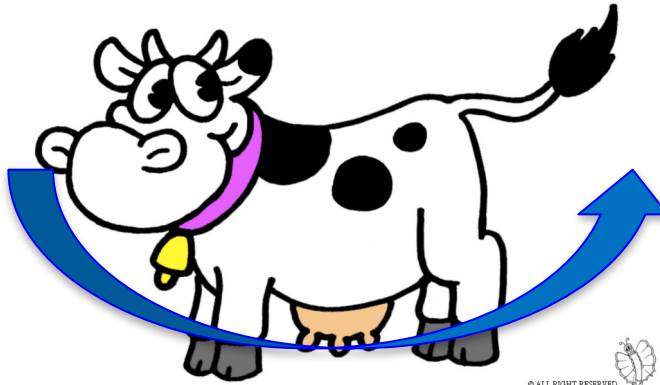


# MICOTOSSINE NEI MANGIMI

## Carry-over

% di micotossina che passa nel prodotto animale sotto forma di metabolita

Sostanze  
Indesiderabili  
nei mangimi



- Benessere animale
- Produttività
- Esposizione nell'uomo  
Residui di contaminanti nei mangimi (micotossine e metaboliti)

Micotossine nei mangimi carry-over

Rischio per la salute dell'uomo e dell'animale

Aflatossina B1

Aflatossina M1

Nessun rischio per la salute dell'uomo, ma rischio per la salute animale

Fusario-tossine

Nessun metabolita





Group 1 Carcinogenic to humans

Group 2A Probably carcinogenic to humans

Group 2B Possibly carcinogenic to humans

Group 3 Not classifiable as to its carcinogenicity to humans

# MICOTOSSINE

Micotossina	Genere	Matrici	Effetto avverso	IARC
Aflatossine (B1, B2, G1, G2)	<i>Aspergillus</i>	Mais, arachidi, semi oleaginosi, fichi secchi, spezie	Genotossico, cancerogeno, epatotossico, immunotossico	Gruppo 1 (AFB <sub>1</sub> )
Ocratossina A (OTA)	<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i>	Mais, frumento, orzo, caffè verde, spezie, cacao, vino, birra	nefrotossico, teratogeno, immunotossico	Gruppo 2B
Fumonisine (FB1, FB2)	<i>Fusarium</i>	Mais, birra	citotossico, neurotossico	Gruppo 2B
Deossinivalenolo (DON)	<i>Fusarium</i>	Mais, frumento, orzo, avena, segale, riso	vomito, diarrea, immunotossico	Gruppo 3
Zearalenone (ZEA)	<i>Fusarium</i>	Mais, frumento	disordini endocrini, ematotossico, immunotossico	Gruppo 3
Tossine T-2 e HT-2	<i>Fusarium</i>	Avena, mais, frumento, orzo, segale	neurotossicità, ematotossico, immunotossico	Gruppo 3

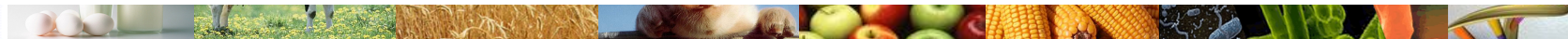
# LE AFLATOSSINE

## L' Aflatossina B1 è una sostanza cancerogena genotossica

- L' Aflatossina B1 è il più potente cancerogeno (epatico) tra le sostanze naturali che possono contaminare i prodotti alimentari
  - Lo IARC (2012) ha classificato le aflatossine B1 e G1 come un gruppo di cancerogeni per l'uomo (Gruppo 1) che causa carcinoma epato-cellulare
  - In tutte le specie animali testate, l'AFB1 e AFG1 sono cancerogene, mentre ci sono *evidenze limitate* sulla cancerogenicità di AFB2 e *evidenze inadeguate* sulla cancerogenicità di AFG2.
  - L'AFM1 è classificata come possibile cancerogeno per l'uomo (Gruppo 2B) dallo IARC
- AFB1 e AFG1 sono mutagene nei batteri;
- AFB1 induce mutazioni puntiformi, ricombinazione mitotica nelle cellule di mammifero e instabilità genetica.

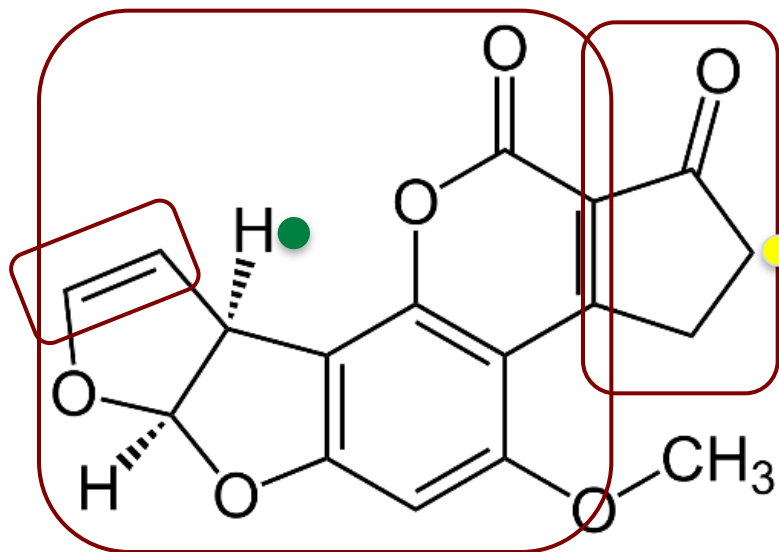
**Non esiste alcun valore soglia al di sotto della quale si possa ipotizzare l'assenza di un'azione cancerogena.**

**Solo il livello zero di esposizione corrisponde a rischio zero**



# AFLATOSSINA B1 (AFB1)

(caratteristiche chimico-fisiche)



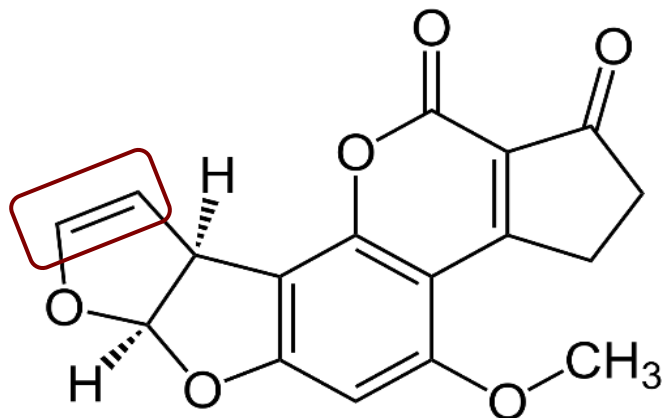
No. CAS 1162-65-8

Proprietà

Nome IUPAC	4-Methoxy-2,3,6a,9a-tetrahydrocyclopenta[c]furo[3',2':4,5]furo[2,3-h]chromene-1,11-dione
Peso molecolare	312.277 g/mol
Punto di fusione	268-269 ° C
Punto di ebollizione	528.2 ± 50.0 ° C a 760 mmHg
Pressione di vapore	2.65*10 <sup>-10</sup> mmHg a 25° C
Potere rotatorio specifico	[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = -558° (in cloroformio)



# LE AFLATOSSINE



- ✓ La gran parte dei dati tossicologici sono relativi alla AFB1.
- ✓ Le informazioni sulla potenza relativa dei congeneri riguardano la mutagenicità nei batteri e gli effetti di epato-cancerogenicità nella trota e nei ratti con il seguente ordine

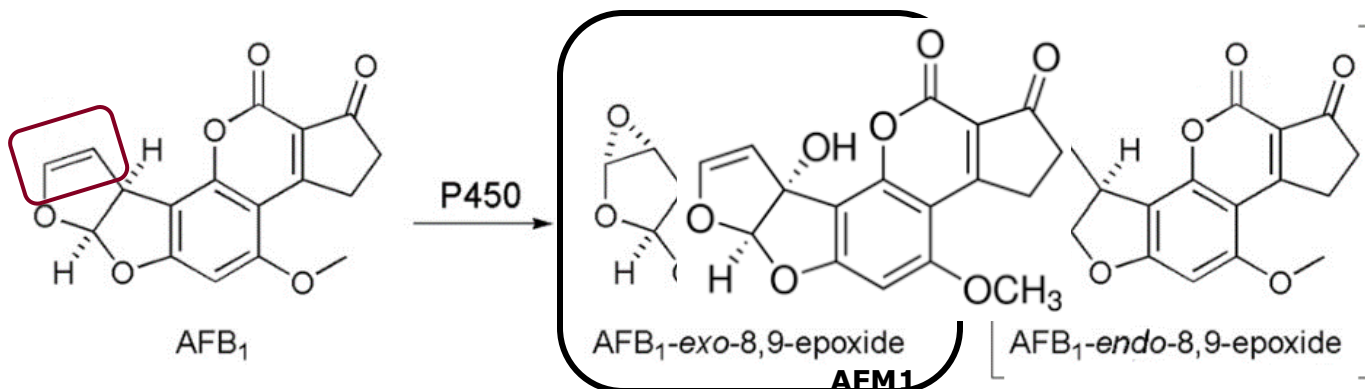
**AFB1 > (AFG1, AFM1) >> (AFB2, AFG2)**

- Tale ordine di mutagenicità e attività cancerogena è legata alla presenza in AFB1, AFM1 e AFG1 di un doppio legame reattivo che può dare luogo ad un intermedio epossidico altamente reattivo (addotti con il DNA)





# METABOLISMO E TOSSICITÀ



Fase I

**Metabolita idrossilato Principale  
metabolita dell'AFB<sub>1</sub> nell'uomo**



- Coniugazione metaboliti idrossilati con acido Glucuronico
- Coniugazione epossido con Glutazione (GSH)

Fase II

**95% addotti col DNA**

**Sito apurinico e danno genetico di transversione  
(purine - pirimidine)**



# METABOLISMO E TOSSICITÀ

La coniugazione enzimatica dell'eossido reattivo con la glutatione S-transferasi (GST) nel fegato è critica per spiegare la variabilità inter-specie della suscettibilità alla cancerogenicità della AFB1.

L'ordine di attività enzimatica di coniugazione AFB1 a carico del GSH è

**topo > ratto > uomo**

(Raney *et al.*, 1992; Kirby *et al.*, 1993)

- Nel topo è presente la classe alfa del GST particolarmente reattiva; nei ratti, nella trota e nell'uomo questo enzima è meno reattivo (specie più suscettibili) (IARC, 2012; FAO/WHO, 2017).



# AFLATOSSICOSI DELLE SPECIE ZOOTECNICHE

L'aflatossicosi è principalmente una epatopatia, che, in animali da allevamento, causa diminuzione della produzione di latte e uova, del tasso di accrescimento, dell'aumento della suscettibilità a parassiti ed infezioni, aborti, disfunzioni gastro-intestinali, anemia, affaticamento, ittero.  
I giovani individui sono più sensibili degli adulti

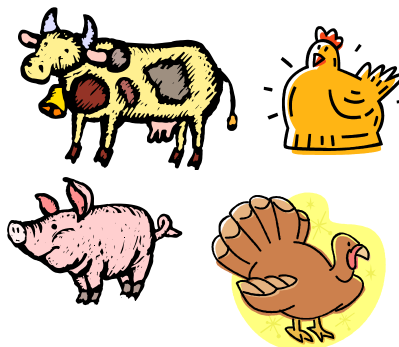
## Aflatossicosi acuta

**Anoressia**

**Ittero**

**Emorragie interne**

**Elevata mortalità**



## Aflatossicosi cronica

**Cattivo stato di salute**

**Calo produttività**

**Immunosoppressione**



# METABOLISMO E TOSSICITÀ

## EFSA 2004

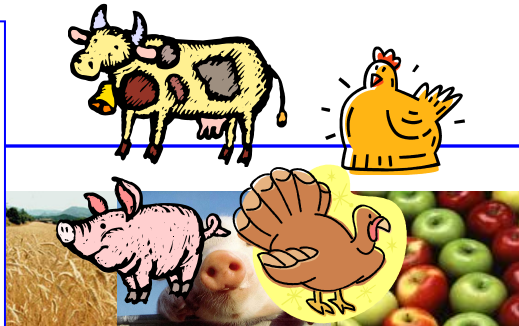
Studi sperimentali e di campo hanno dimostrato che esposizioni prolungate a basse concentrazioni di AFs possono portare a fibrosi epatiche e a tumori di cellule epatiche.

Il carcinoma epatico potrebbe essere indotto in specie di volatili, trota, maiale e pecora, ma la formazione di tumori associata all'assunzione di mangime contaminato negli animali da allevamento in Europa non è stata riportata.

- **La formazione di tumore negli animali da allevamento non è considerata un *endpoint* di tossicità rilevante.**

### Aflatossicosi acuta

**Anoressia**  
**Ittero**  
**Emorragie interne**  
**Elevata mortalità**



### Aflatossicosi cronica

**Cattivo stato di salute**  
**Calo produttività**  
**Immunosoppressione**





# METABOLISMO E TOSSICITÀ

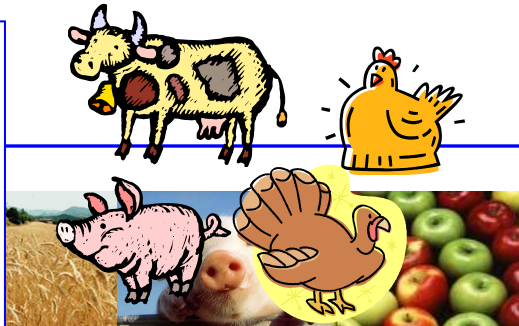
## EFSA 2004

Le AFs hanno effetto anche sul sistema immunitario cellulare e umorale esponendo gli animali a infezioni batteriche fungine e parassitiche. Intossicazioni acute da AFBs sono state registrate raramente nelle moderne condizioni di allevamento, *tuttavia* lo scarso aumento di peso, scarsa produttività di latte e uova e l'aumento di suscettibilità ad infezioni possono portare a forti perdite economiche per l'esposizione a AFs (Shane, 1994).

- Il margine tra la dose tossica ( $> 1.5$  mg/kg mangime) e il limite massimo (0.020 mg/kg feed) di ca 75-volte dovrebbe fornire un'adeguata protezione contro questi effetti.

### Aflatossicosi acuta

**Anoressia**  
**Ittero**  
**Emorragie interne**  
**Elevata mortalità**



### Aflatossicosi cronica

**Cattivo stato di salute**  
**Calo produttività**  
**Immunosoppressione**



# METABOLISMO E TOSSICITÀ

Le **specie bovine** adulte sono meno sensibili agli effetti delle aflatossine se confrontate con i non-ruminanti data la bioconversione a carico di microrganismi ruminali che produce composti idrosolubili e meno tossici rispetto alle micotossine di partenza.

Per questa ragione si tende a considerare i ruminanti adulti meno sensibili dei monogastrici agli effetti dannosi delle micotossine

- **La dose massima permessa di 0.020 mg aflatossina B1/kg nel mangime (Directive 2002/32/EC) non produrrebbe effetti acuti nelle vacche da latte e altri ruminanti.**

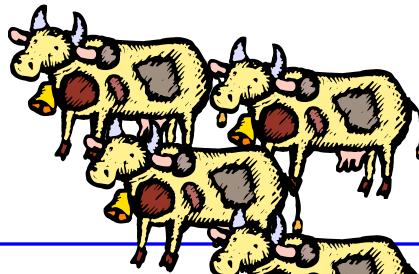
## Aflatossicosi acuta

*Anoressia*

*Ittero*

*Emorragie interne*

*Elevata mortalità*



## Aflatossicosi cronica

*Cattivo stato di salute*

*Calo produttività*

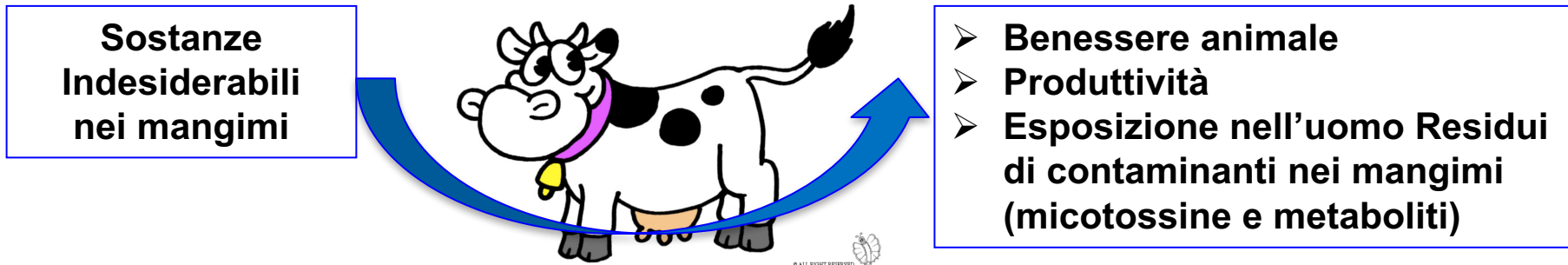
*Immunosoppressione*



# MICOTOSSINE NEI MANGIMI

## Carry-over

% di AFB1 che passa nel latte sotto forma di AFM1



- **La comparsa di AFM1 nel latte è piuttosto rapida** (rinvenuta già dopo 4 ore dall'assunzione di alimento contaminato con AFB1).
- **Il massimo** di escrezione si raggiunge nell'arco di 24 ore.
- Analogamente entro poche ore dall'**eliminazione** della fonte di contaminazione di AFB1, la concentrazione di AFM1 inizia a scendere e raggiunge valori estremamente bassi in soli 2 – 3 giorni.

**L'assunzione giornaliera di AFB1 degli animali ( $\mu\text{g}/\text{die}$ )**

- **Previsione del carry over sul latte di massa (Veldman et al., 1992):**

$$\text{AFM 1 (ng/kg)} = 1,9 + 1,19 \times \mu\text{g AFB1 ing/capo/die}$$

- **Simulazione di carry-over:**

$$\text{razione con AFB1} \geq 40 \mu\text{g/die} = \text{latte con AFM1} \geq 50 \text{ ppt}$$



# MICOTOSSINE NEI MANGIMI

EFSA, 2004

**Table 2:** Estimated concentrations of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk of various animal species considering a carry-over rate of either 6% (reported level for high yielding cows) or 2% (assumed average level).

Species	Case	Milk kg/d	Total feed intake kgDM/d	Compl. feeds in kgDM/d	Feed mat. in kgDM/d	Compl. feeds AFB <sub>1</sub> µg/kg	Feed mat. AFB <sub>1</sub> µg/kg	AFB <sub>1</sub> intake µg/d	Carry over	AFM <sub>1</sub> µg/kg milk
Cattle	A	50	26.0	19.5	6.5	5.0	20.0	227.5	0.06	0.27
	B	25	17.5	7.0	11.5	5.0	20.0	265.0	0.02	0.21
	C	25	17.5	7.0	11.5	5.0	0.0	35.0	0.02	0.03
Sheep	A	4	4.5	3.3	1.2	5.0	20.0	40.5	0.06	0.61
	B	2	3.0	1.0	2.0	5.0	20.0	15.0	0.02	0.45
	C	2	3.0	1.0	2.0	5.0	0.0	5.0	0.02	0.05
Goat	A	6	6.0	4.0	2.0	5.0	20.0	60.0	0.06	0.60
	B	3	4.0	1.5	2.5	5.0	20.0	57.5	0.02	0.38
	C	3	4.0	1.5	2.5	5.0	0.0	7.5	0.02	0.05
Camel	A	20	15.0	10.0	5.0	5.0	20.0	150.0	0.06	0.45
	B	10	10.0	3.0	7.0	5.0	20.0	155.0	0.02	0.31
	C	10	10.0	3.0	7.0	5.0	0.0	15.0	0.02	0.03
Buffalo	A	10	12.0	2.0	10.0	5.0	20.0	210.0	0.06	1.26
	B	5	10.0	1.0	9.0	5.0	20.0	185.0	0.02	0.740
	C	5	10.0	1.0	9.0	5.0	0.0	5.0	0.02	0.02

- **Case A (carry-over-rate 6 %)** represents a high performance animal exposed to the ML of AFB<sub>1</sub> in complementary feedstuffs and feed materials, according to Directive 2002/32/EC.

- **Case B (carry over-rate 2 %)** represents an animal with an average performance exposed to the ML of AFB<sub>1</sub> in complementary feedstuffs and feed materials according to Directive 2002/32/EC.

- **Case C (carry over-rate 2 %)** represents an animal with average performance exposed to the ML of AFB<sub>1</sub> in complementary feedstuffs according to Directive 2002/32/EC but without additional exposure to AFB<sub>1</sub> via feed materials.





# METABOLISMO E TOSSICITÀ

- ✓ **Aflatossine B1, G1 (IARC, gruppo 1, «AFB1 cancerogena per gli umani»)**
- ✓ **Aflatossina M1 (IARC, gruppo 2B, possibilmente carcinogena per gli umani)** è un metabolita dell'aflatossina B1, presente nel latte e nei prodotti lattiero-caseari, dovuto al consumo di **MANGIMI** contaminati.

Al fine di conformarsi ai livelli massimi di AFM1 nel latte (reg. CE 1881/2006) sono stati definiti i livelli massimi di aflatossina B1 nei mangimi (Direttiva 2002/32/CE).

Il parere EFSA (*Efsa Journal* (2004) 39, 1-27) sull'AFB1 quale sostanza indesiderabile nei **MANGIMI** conclude che i **livelli AFB1 nei mangimi rappresentano adeguata protezione per la salute animale ma anche per i livelli di AFM1 nel latte**

- da 20 µg/kg per le materie prime a 5 µg/kg per i mangimi composti per bovini da latte.



# LEGISLAZIONE

## ALIMENTI

1. **Regolamento CEE n. 315/93** che stabilisce procedure comunitarie relative ai contaminanti nei prodotti alimentari.
2. **Regolamento CE n. 1881/2006** che stabilisce limiti massimi di alcuni contaminanti negli alimenti.
  - **Regolamento CE n. 401/2006** relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di micotossine nei prodotti alimentari.

## MANGIMI

1. **Regolamento UE n. 574/2011** sui livelli massimi dell'aflatossina B1 nei mangimi (modifica l'allegato I della Direttiva 2002/32/CE)
  - **Regolamento CE n. 509/2009** relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo (modificato dal Regolamento UE 691/2013)
2. **Raccomandazione 576/2006** sulla presenza di DON, ZEA, OTA, T2, HT2 e fumonisina B1 in prodotti destinati alla alimentazione animale
3. **Regolamento CE n. 767/2009** sull'immissione sul mercato e sull'uso dei mangimi.



# LEGISLAZIONE

- ✓ Aflatossine sono sostanze genotossiche, cancerogene
- ✓ Non esiste una soglia di esposizione per cui non rappresentino un rischio
  - ✓ Non è possibile fissare una dose giornaliera tollerabile

## Regolamento CE 1881/2006 (e successive modifiche)

- Per le AFs i LIMITI MASSIMI sono definiti «al livello più basso ragionevolmente ottenibile (ALARA — as low as reasonably achievable)». Tali approcci garantiscono l'applicazione, da parte degli operatori del settore alimentare, di misure volte a evitare e ridurre quanto più possibile la contaminazione, così da tutelare la salute pubblica.
- Per la tutela della salute dei lattanti e dei bambini, che costituiscono un gruppo vulnerabile, è altresì opportuno stabilire tenori massimi ai più bassi livelli ottenibili mediante una selezione rigorosa delle materie prime impiegate nella produzione degli alimenti destinati ai lattanti e ai bambini



# LEGISLAZIONE ALIMENTI LATTE

## Regolamento CE 1881/2006 (e successive modifiche)

		Tenori massimi ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) AFM1
2.1.13	Latte crudo, latte trattato termicamente e latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte	0,050
	Alimenti per lattanti e alimenti di proseguimento, compresi il latte per lattanti e il latte di proseguimento	0,025
	Alimenti dietetici a fini medici speciali destinati specificamente ai lattanti	0,025



# LEGISLAZIONE ALIMENTI LATTE

## AFM1



### Articolo 2 del Regolamento CE 1881/2006

#### «Prodotti alimentari essiccati, diluiti, trasformati e composti»

Nell'applicare i tenori massimi di cui all'allegato ai prodotti alimentari essiccati, diluiti, trasformati o composti bisogna tenere conto delle:

- a) modifiche della concentrazione causate dai processi di essiccazione o di diluizione;
- b) modifiche della concentrazione causate dalla trasformazione;

I fattori specifici di concentrazione o diluizione vengono forniti e motivati dall'OSA quando l'AC effettua un controllo ufficiale. In alternativa è l'AC stessa a definire il fattore in base alle informazioni disponibili, perseguendo nel contempo la massima protezione della salute pubblica.



# LEGISLAZIONE ALIMENTI

## Aflatossina M1 nel latte e nei prodotti lattiero-caseari

**Nota pr.46330 del 6.12.2016**

1. OSA non hanno definito specifici fattori di concentrazione
2. Le AC, per i controlli ufficiali, utilizzano i fattori di concentrazione di cui alla nota ministeriale pr 0028454 del 3.7.2013
3. Difficoltà nell'inquadrare i prodotti nelle categorie della succitata nota (es. formaggi a pasta dura, ecc.)
4. In caso di superamento dei valori raccomandati smaltiti come sottoprodotti di categoria 1 ai sensi del regolamento CE 1069/2009

	<b>Prodotti lattiero caseari</b>	<b>Coefficienti di concentrazione</b>
Art.2 del Regolamento CE n.1881/2006		
Nota DGISAN pr0028454 del 3.7.2013 (sulla base del parere CNSA)	«Formaggi a pasta tenera e prodotti derivati dal siero»	3,0
	«Formaggi a pasta dura»	5,5



# LEGISLAZIONE MANGIMI

## REGOLAMENTO UE 574/2011 (modifica della Direttiva 2002/32/CE) Tenori massimi di AFB1 ammessi in prodotti destinati alla alimentazione animale

MANGIME	AFB1 (mg/kg)
Materie prime per mangimi	0,02
Mangimi complementari e completi ad eccezione di:	0,01
✓ mangimi composti per bovini da latte e vitelli, ovini da latte ed agnelli, caprini da latte e capretti, suinetti e pollame giovane.	0,005
✓ mangimi composti per bovini (eccetto bovini da latte e vitelli), ovini (eccetto ovini da latte ed agnelli), caprini (eccetto caprini da latte e capretti), suini (eccetto suinetti) e pollame (eccetto pollame giovane).	0,02



# LEGISLAZIONE MISURE DI GESTIONE ALIMENTI

*Per garantire un'efficiente tutela della salute pubblica, **i prodotti il cui contenuto di contaminanti superi il tenore massimo** non devono essere commercializzati come tali né dopo miscelazione con altri prodotti alimentari, né essere impiegati come ingredienti di altri alimenti.*

Regolamento CE n.1881/2006.

Divieti in materia di uso, miscelazione e detossificazione (Art 3)

- I prodotti alimentari non conformi ai tenori massimi di cui all'allegato non possono essere utilizzati come ingredienti alimentari.
- I prodotti alimentari conformi ai tenori massimi di cui all'allegato non possono essere miscelati con prodotti alimentari in cui tali tenori massimi siano superati.
- I prodotti alimentari contenenti i micotossine non possono essere sottoposti a detossificazione mediante trattamenti chimici.



# LEGISLAZIONE MISURE DI GESTIONE MANGIMI

- ✓ Secondo la **Direttiva 2002/32/CE** i prodotti destinati all'alimentazione degli animali in cui il contenuto di sostanza indesiderabile superi il livello massimo fissato nell'allegato I **non possono essere miscelati**, a scopo di diluizione, con lo stesso prodotto o con altri prodotti destinati all'alimentazione degli animali.
- ✓ **L'utilizzo di additivi** appartenente ai gruppi funzionali «leganti» e «anti-agglomeranti» autorizzati (es. bentonite) è consentito nei mangimi che rispettano la legislazione dell'Unione europea relativa alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali.
- ✓ Raccomandazione 2006/576/CE fissa valori guida sulla presenza delle fusariotossine DON, ZEA, OTA, T2/HT2 e fumonisina B1 in prodotti destinati alla alimentazione animale. Per i prodotti contaminati dalle suddette fusariotossine, la miscelazione con materia prima non contaminata per diluire il tenore di micotossina, è autorizzato.



# LEGISLAZIONE MISURE DI GESTIONE MANGIMI

- Il Ministero della Salute: nota 0000855-P-16/01/2013 introduce indicazioni operative straordinarie rivolte alle AC ed agli OSA/OSM per consentire di ridurre i livelli di aflatossine nel mais mediante tecniche di pulizia o altro trattamento fisico.

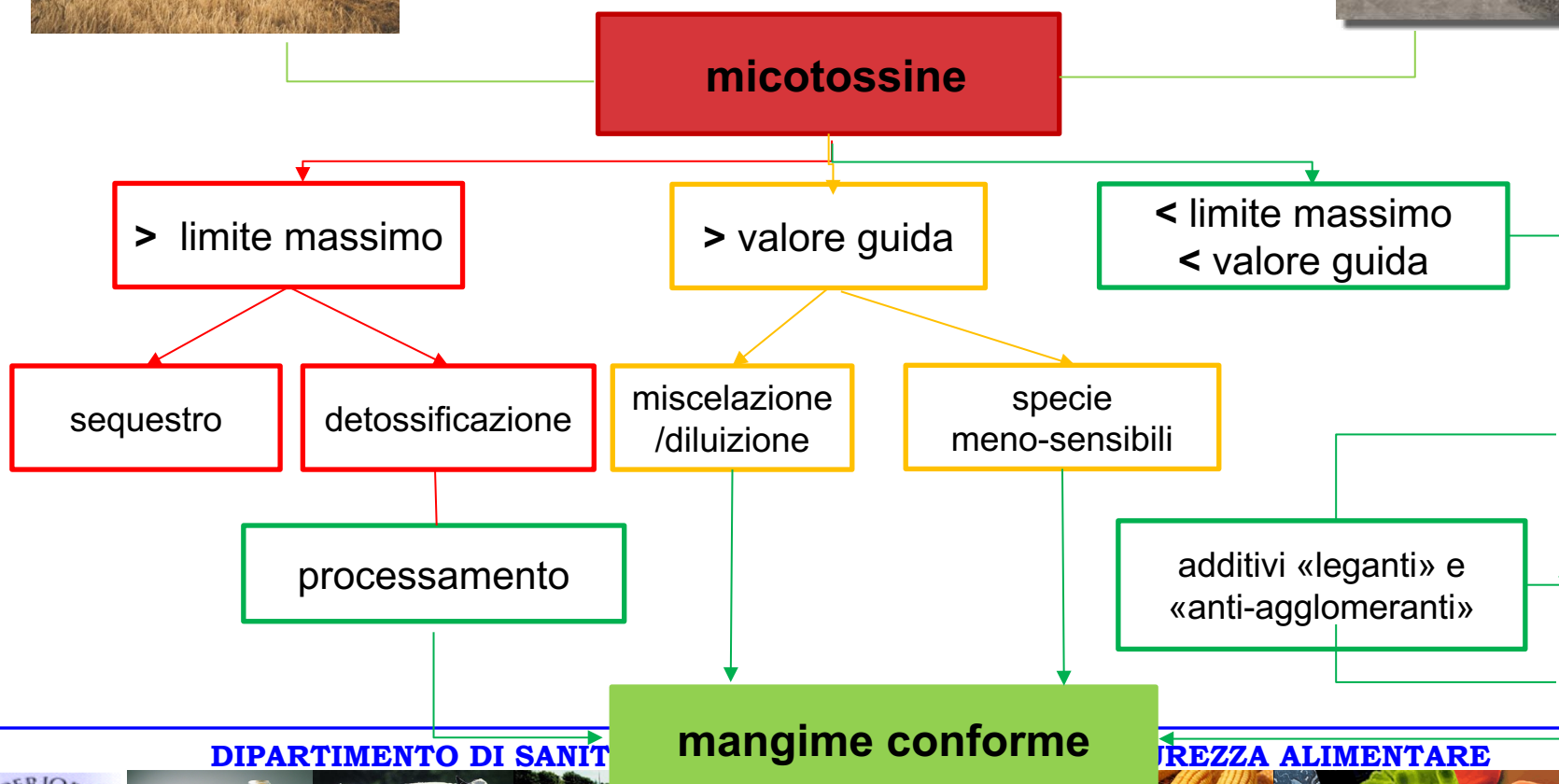
Secondo il Regolamento CE 767/2009 (immissione sul mercato ed uso dei mangimi) il mais destinato all'alimentazione animale, non conforme ai limiti fissati per l'AFB1 può essere immesso sul mercato previa **detossificazione** a condizione che:

- 1) La detossificazione avvenga in stabilimenti riconosciuti ai sensi dell'articolo 10, paragrafi 2/3, del regolamento (CE) n. 1831/2005.
- 2) Il mais sia accompagnato da documento di trasporto/dichiarazione in cui si indica lo spediteore, la quantità, il lotto, e che riporti la dicitura "*mais semilavorato destinato alla detossificazione*".
- 3) Etichetta del mangime rechi la dicitura "*mangimi contenenti livelli eccessivi di ...*"





# LEGISLAZIONE MISURE DI GESTIONE ALIMENTI



# ATTIVITÀ DI CONTROLLO ALIMENTI

## PNCMA: Piano nazionale di controllo delle micotossine negli alimenti Anni 2016-2018

Tabella 1. Combinazioni matrice alimentare/micotossine oggetto di priorità di controllo

Micotossina	Matrice	Esempi
Aflatossine B e G	Frutta secca ed essiccata/frutta a guscio e prodotti derivati	Pistacchi, arachidi, mandorle, ingredienti per gelati a base di frutta a guscio
Aflatossina M1	Latte e prodotti derivati	Latte HT, latte fresco pastorizzato, latte crudo al dettaglio (con esclusione del latte crudo in allevamento)

## Tabella 3. Ripartizione dei campioni di sorveglianza per Regione/Provincia Autonoma (AFM1 nel latte fresco pastorizzato e HT)

- ✧ Lombardia: 30 campioni
- ✧ Piemonte: 10 campioni
- ✧ Puglia: 17 campioni
- ✧ Sardegna: 10 campioni
- ✧ Umbria: 5 campioni
- ✧ Valle d'Aosta: 4 campioni

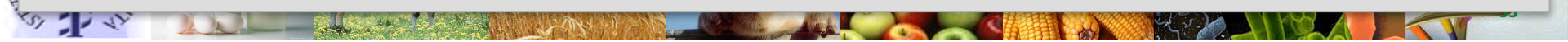
# ATTIVITÀ DI CONTROLLO ALIMENTI

## PNCMA

### Anno 2016 - Dati del controllo ufficiale nel sistema NSIS Alimenti

Prodotto alimentare/micotossi na oggetto di campionamento	N. campioni per Regione/Provincia autonoma	N. totale di campioni di latte (PNCMA)	N. totale campioni presenti nel sistema	Punti di campionamento	N. campioni di latte non conformi
<ul style="list-style-type: none"> <li>•Latte fresco pastorizzato e HT/AFM1</li> <li>•<u>Extra Piani</u>: latte trattato termicamente, latte crudo al dettaglio (escluso quello in allevamento)</li> </ul>	Sulla base del numero abitanti per Regione/Provinci a autonoma e dei dati di consumo per area geografica.	76	396	Stabilimenti di trasformazione e di trattamento termico; centri di raccolta; distributori; produzione per la vendita diretta in allevamento; vendita al dettaglio	1

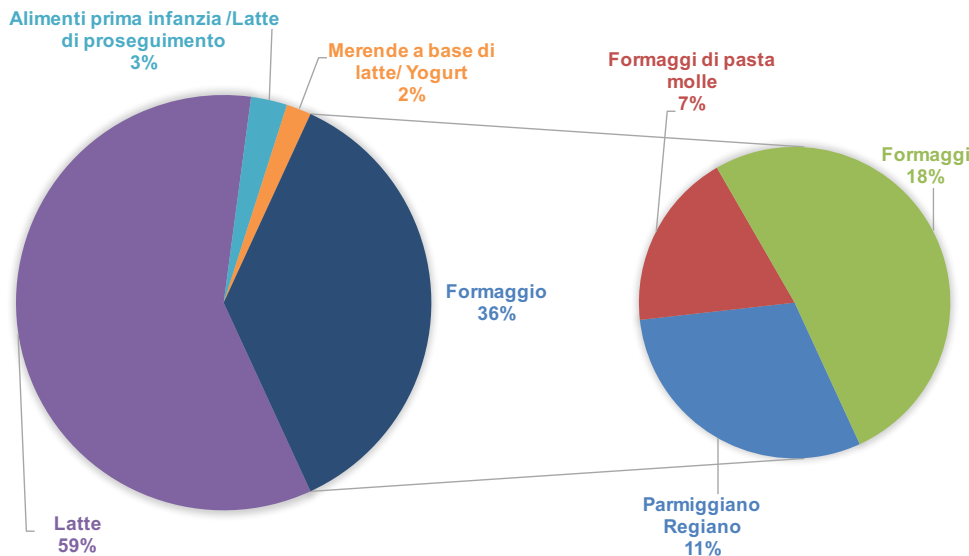
Primo anno di applicazione del Piano nazionale e dell'inserimento dei dati nel sistema



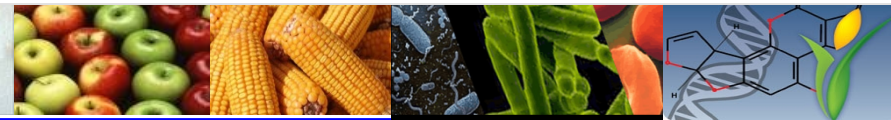
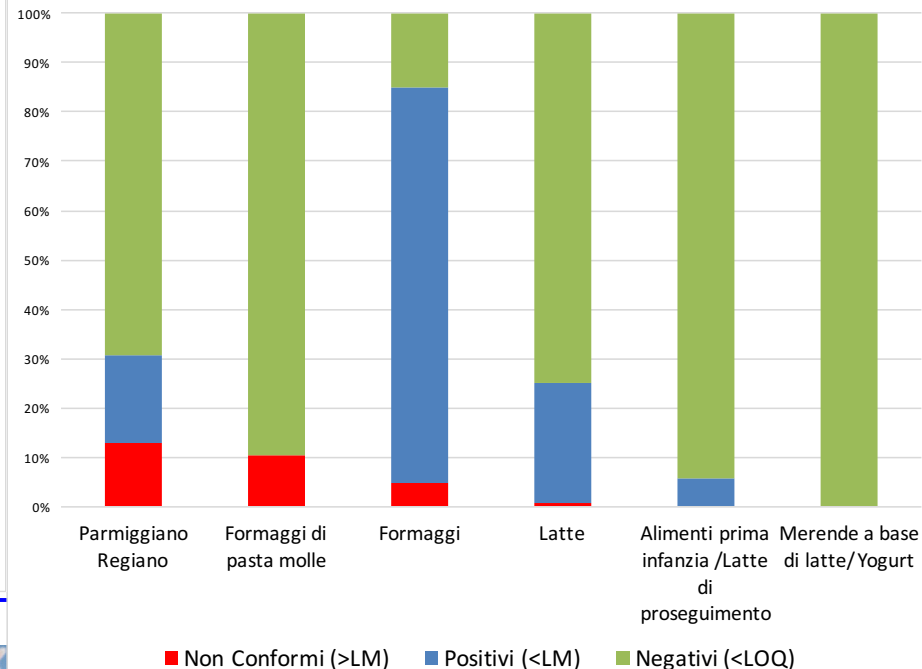
# ATTIVITÀ DI CONTROLLO ALIMENTI

**PNCMA:** Piano nazionale di controllo delle micotossine negli alimenti  
**Anno 2017 - Dati del controllo ufficiale degli Alimenti – Latte e prodotti derivati**

CONTROLLO UFFICIALE - ALIMENTI: LATTE E PRODOTTI DERIVATI (2017)



Distribuzione dei campioni negativi (<LOQ), dei positivi e dei non conformi fra i campioni di latte e prodotti derivati (2017)



# ATTIVITÀ DI CONTROLLO MANGIME

**PNAA, 2015 - 2016 - 2017**

**Piano Nazionale Di Controllo Ufficiale Sull'alimentazione degli Animali**

- ✓ **PNAA 2016 - n. 1.476 campioni prelevati nell'ambito del programma di controllo della contaminazione dei mangimi da Micotossine, (96,66% del programmato)**

Micotossine Monit.	996	11	0,3
Micotossine Sorv.	480	4	0,21
<b>Totale parziale</b>	<b>1476</b>	<b>15</b>	<b>0,27</b>

- ✓ **Attività Extra-Piano effettuata dalle Regioni e Province Autonome**

Micotossine Monit.	217	1
Micotossine Sorv.	4	0
<b>Tot.</b>	<b>221</b>	<b>1</b>





# ATTIVITÀ DI CONTROLLO ALIMENTI

**PNAA, 2015 - 2016 - 2017**

**Piano Nazionale Di Controllo Ufficiale Sull'alimentazione degli Animali**

- ✓ **PNAA 2016 – Programma di sorveglianza e monitoraggio. Analisi e non conformità**

Micotossine Sorveglianza			
MATRICE	numero di campioni prelevati	Aflatossina B1	
		effettuate	non conformi
		Materie Prime	174
Materia Prime immagazzinate per lungo tempo	27	20	0
Mangime Composti	67	47	0
Mangime Composti per bovini da latte	111	107	1
Mangime Composti per altri animali da latte	45	42	1
Mangimi Composti per Suini	56	38	0
<b>TOTALE</b>	<b>480</b>	<b>409</b>	<b>3</b>

Micotossine Monitoraggio			
MATRICE	numero di campioni prelevati	Aflatossina B1	
		effettuate	non conformi
		Materie Prime	256
Mangime Composto	318	207	6
Mangime Completo (secco) per animali da compagnia	89	83	0
Mangime Completo per animali da latte	333	290	4
<b>TOTALE</b>	<b>996</b>	<b>784</b>	<b>11</b>

# ATTIVITÀ DI CONTROLLO RASFF - LATTE

## NOTIFICHE DALL'ITALIA, 2016 - (2018)

Base per la notifica	
company's own check	3
official control on the market	2
Prodotto	
milk	2
cheese	3
whey	1

- milk and milk products from Italy
- sweet whey without lysozyme from Italy
- milk from Italy
- cheese from Italy produced with milk contaminated
- sweet gorgonzola cheese from Italy produced with milk
- grana padano cheese from Italy

DIPARTIMENTO DI SANITA' PUBBLICA VETERINARIA E SICUREZZA ALIMENTARE

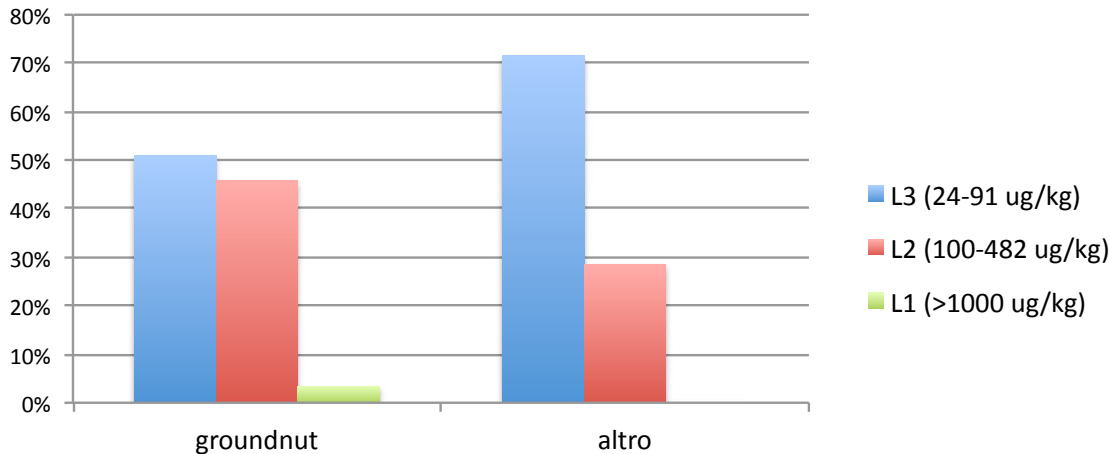


# ATTIVITÀ DI CONTROLLO

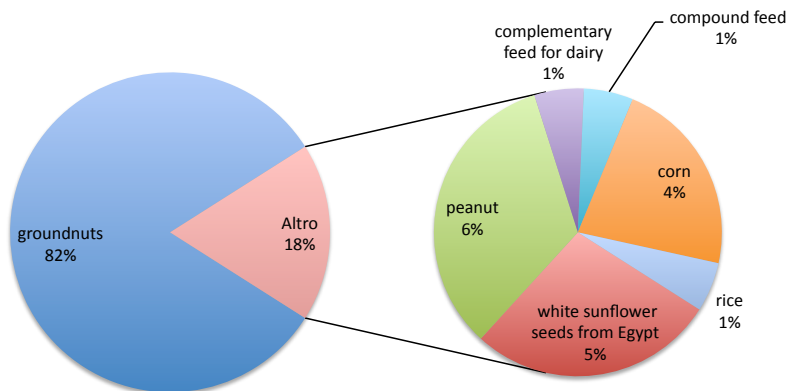
## RASFF - MANGIMI

### NOTIFICHE 1/2016 - 5/2018

Percentuale di positivi per livello: groundnut e altri prodotti



Notifiche RASFF (n=73 nel periodo 1/1/2016 - 31/5/2018)  
Percentuali positivi aflatossina nei mangimi



TIPOLOGIA MANGIME	%
compound feeds	3%
feed materials	92%
nuts, nut products and seeds	4%
AZIONE INTRAPRESA	%
<b>Destruction</b>	<b>4%</b>
Importazione non autorizzata	26%
Informing authorities/importatore	7%
Official detention/sequestro	25%
<b>Physical/chemical treatment</b>	<b>14%</b>
Re-dispatch	7%
<b>Use for other purpose than food/feed</b>	<b>1%</b>
Withdrawal from the market	1%
Detained by operator	1%
Return to consignor	3%
no stock left	1%
nessuna info	10%





# CAMPIONAMENTO NORMATIVA



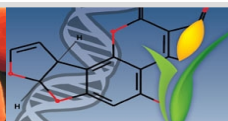
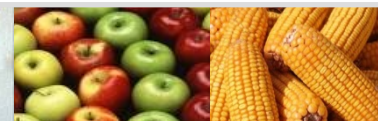
## ALIMENTAZIONE ANIMALE MANGIMI

- Regolamenti CE/152/2009 e EU/691/2013



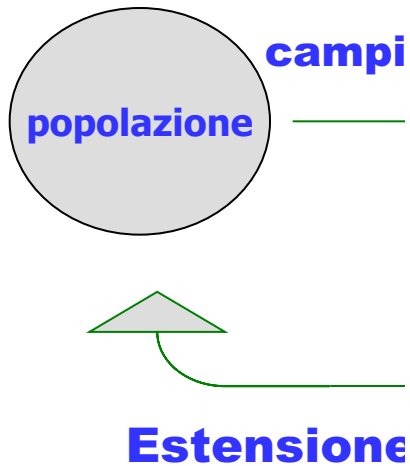
## ALIMENTAZIONE UMANA

- Regolamento (CE) 401/2006



# CAMPIONAMENTO PRINCIPI GENERALI

Il principale obiettivo di un buon campionamento è quello di raccogliere dati che consentano di generalizzare all'intera popolazione i risultati ottenuti dal campione. Questo processo di generalizzazione è detto «inferenza».



Le attività di Controllo devono essere effettuate per stabilire la conformità del LOTTO e NON del campione globale

**campione**

**INFERENZA**

Estratto da: <http://www.iz>





# CAMPIONAMENTO

## PRINCIPI GENERALI

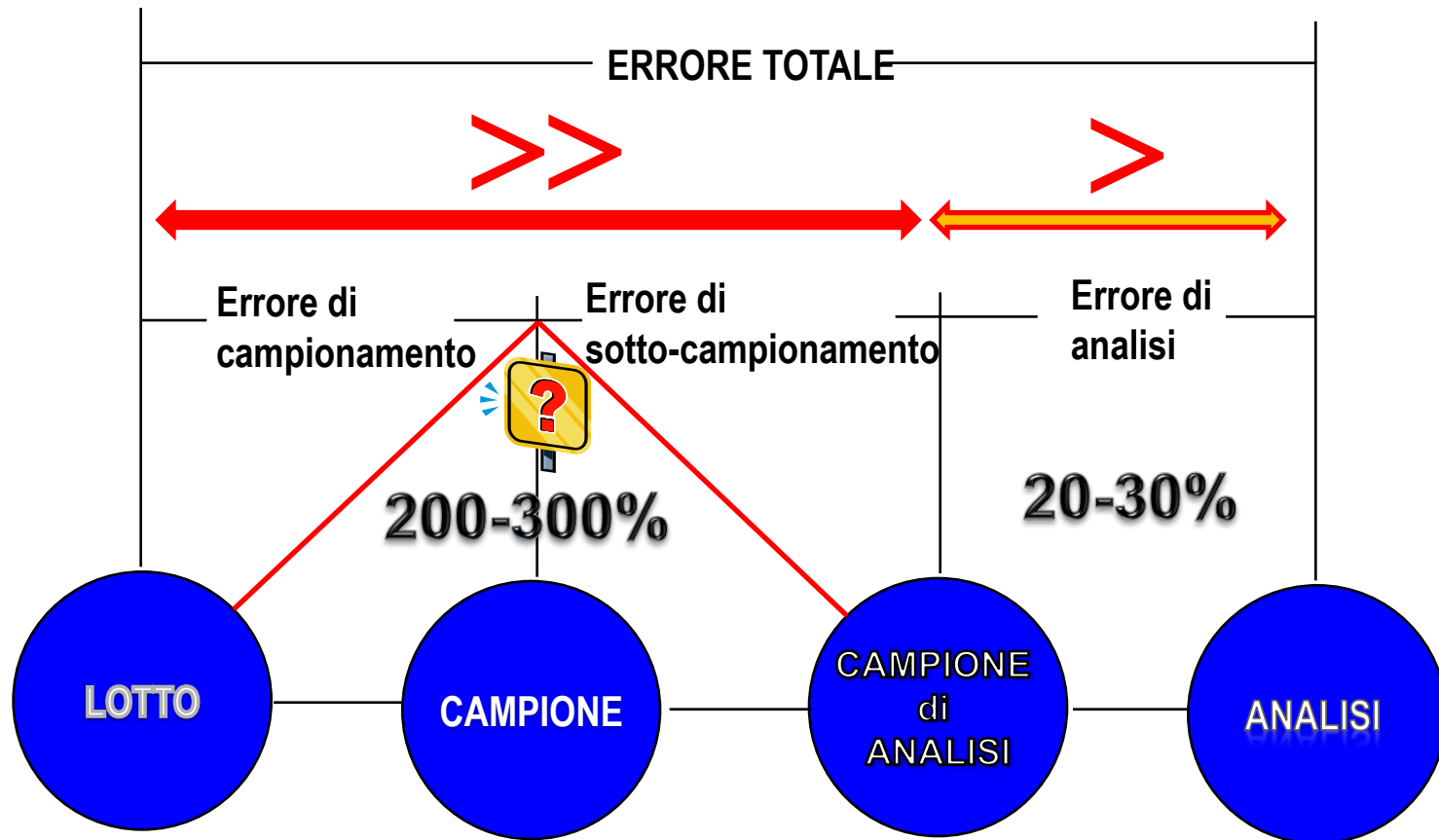
Un campionamento non corretto vanifica il lavoro e gli sforzi degli analisti e rende dubbie le conclusioni del risultato di analisi

**Errate procedure di campionamento rappresentano la fonte di errore principale per analiti distribuiti in modo eterogeneo all'interno di un lotto.**

**L'ampiezza dell'errore di campionamento è di gran lunga più significativa di quella derivante dall'analisi quantitativa**



# CAMPIONAMENTO PRINCIPI GENERALI



**ERRORI CONNESSI CON LA FILIERA ANALITICA**



# CAMPIONAMENTO

## PRINCIPI GENERALI

- Il principio generale di un buon campionamento prevede che ciascuna unità della popolazione abbia la stessa probabilità di essere scelta.

**In tal caso il campione viene detto «randomizzato» o «casuale»  
assenza di errori sistematici (bias)**

- ✓ **Casuale: ogni unità ha la stessa probabilità di essere campionata**

**(LOTTI CAMPIONATO PER CONTAMINANTI OMOGENEAMENTE  
DISTRIBUITI)**

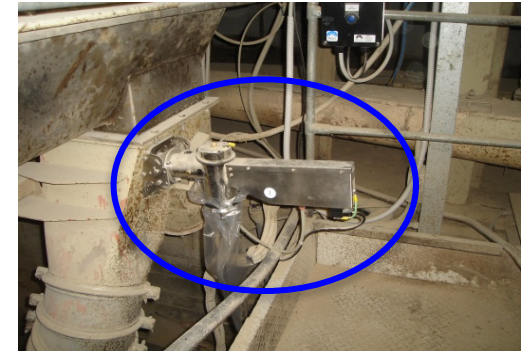


# CAMPIONAMENTO

## PRINCIPI GENERALI

- ✓ Nel caso delle sostanze *eterogeneamente distribuite* in una partita (micotossine, OGM etc.), il *campionamento casuale* non è quello più appropriato in quanto porterebbe a stime non accurate (distribuzione non normale).
- ✓ **Sistematico**: avviene attraverso il prelevamento di campioni incrementali in condizioni prestabilite ed ad intervalli regolari (tempo di campionamento, frequenza costante di campionamento, ecc.)

### ➤ Dinamico



### ➤ Statico





# CAMPIONAMENTO NORMATIVA ALIMENTI

## Regolamento (CE) 401/2006

**F. Metodo di campionamento per il controllo ufficiale dei tenori massimi stabiliti per l'aflatossina M1 nel latte, nei prodotti lattiero-caseari, negli alimenti per lattanti e negli alimenti di proseguimento, compresi il latte per lattanti, il latte di proseguimento e gli alimenti dietetici (latte e prodotti lattiero-caseari) a fini medici speciali destinati specificatamente ai lattanti.**

### F.1.

- **Il campione globale** deve essere di almeno 1 kg o 1 litro, salvo i casi in cui ciò non risulti possibile, ad esempio nel caso in cui il campione sia una bottiglia.
- Il numero **minimo di campioni elementari** da prelevare da una partita è indicato nella tabella 1. Il numero di campioni elementari è determinato in funzione della forma abituale in cui i relativi prodotti vengono commercializzati.





# CAMPIONAMENTO NORMATIVA ALIMENTI

## Regolamento (CE) 401/2006 (F)

Nel caso di prodotti liquidi sfusi la partita deve essere accuratamente mescolata.

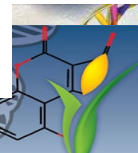
Si può presumere che l'aflatossina M1 sia distribuita omogeneamente in una determinata partita. Pertanto è sufficiente prelevare tre campioni elementari da una partita per formare il campione globale.

Ciascun campione elementare deve pesare almeno 100 grammi per formare un campione globale di almeno 1 kg o 1 litro.

Tabella 1

**Numero minimo di campioni elementari da prelevare da una partita**

Forma di commercializzazione	Volume o peso della partita (l o kg)	Numero minimo di campioni elementari da prelevare	Volume o peso minimo del campione globale (l o kg)
Alla rinfusa	—	3-5	1
Bottiglie/brik	≤ 50	3	1
Bottiglie/brik	50-500	5	1
Bottiglie/brik	> 500	10	1



# CAMPIONAMENTO NORMATIVA ALIMENTI

## Regolamento (CE) 401/2006

### F.2. Campionamento nella fase della distribuzione al dettaglio

(1) Qualora la porzione da campionare sia troppo piccola per ottenere un campione globale di 0,5 kg, il peso di quest'ultimo può essere inferiore a 0,5 kg.

Si può ricorrere a un metodo alternativo di campionamento nella fase della distribuzione al dettaglio purché il campione globale sia sufficientemente rappresentativo della partita campionata e il metodo sia chiaramente descritto e debitamente documentato.

### F.3. Accettazione di una partita o sottopartita

— Accettazione se il campione di laboratorio non supera il limite massimo, tenendo conto dell'incertezza della misura e della correzione per recupero (o del limite di decisione).

— Rifiuto se il campione di laboratorio supera il limite massimo oltre ogni ragionevole dubbio, tenendo conto dell'incertezza della misura e della correzione per recupero (o del limite di decisione).



# CAMPIONAMENTO

## NORMATIVA - MANGIMI

### Regolamento (UE) 691/2013 (modifica del Regolamento CE 152/2009) – Contaminanti nei mangimi

Controllo delle sostanze o dei prodotti distribuiti in modo uniforme (mangimi complementari e completi )

Mangime	Grandezza della parte campionata	Numero minimo di campione elementare	Dimensione minima del campione globale
<b>Alimenti solidi alla rinfusa</b>	≤2,5t	7	4 kg
	>2,5t	$\sqrt{20 \times t}$ , max 40	
<b>Alimenti liquidi alla rinfusa</b>	≤2,5t or ≤2500 lt	4	4 l
	>2,5t or >2500 lt	7	
<b>Alimenti in confezioni</b>	1-20 unità	1 unità	4 kg
	21-150 unità	3 unità	
	151-400 unità	5 unità	
	> 400 unità	$\frac{1}{4}$ delle $\sqrt{n}$ . unità, max 40	
<b>Foraggi grossolani/foraggio</b>	≤5t	5	4 kg
	>5t	$\sqrt{5 \times t}$ , max 40	

# CAMPIONAMENTO NORMATIVA MANGIMI

Regolamento (UE) 691/2013 (modifica del Regolamento CE 152/2009) –  
Contaminanti nei mangimi

Controllo delle sostanze o dei prodotti distribuiti in modo **non uniforme**  
**(mais in granella ad uso zootecnico)**

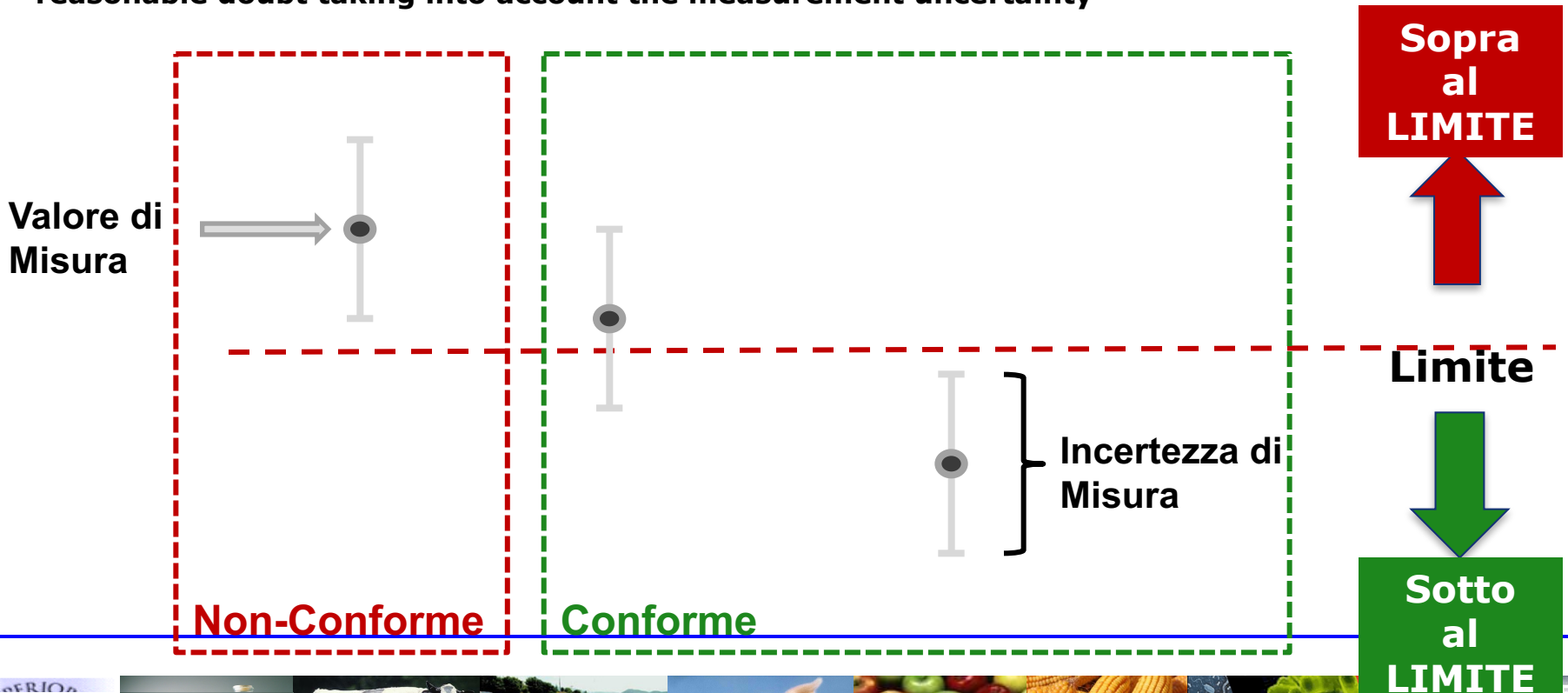
Mangime	Grandezza della parte campionata	Numero minimo di campione elementare	Dimensione minima del campione globale
Tutti i tipi di mangime	≤80t	<b>Moltiplicare per 2.5</b> il numero dei CE ottenuto per le sostanze uniformemente distribuite (slide precedente)	4 kg
	> 80t	100	



# IL CONTROLLO VALUTAZIONE DELLA NON CONFORMITÀ

➤ Aflatossina B1 quando supera i contenuti massimi stabiliti dalla normativa, considerando l'incertezza di misura

Rejection should be done only if the laboratory sample exceeds the maximum limit beyond any reasonable doubt taking into account the measurement uncertainty





# PROVVEDIMENTI IN CASO DI NON CONFORMITÀ

## ✓ Nel caso di riscontro di non conformità per Aflatossina B1:

Per allevamento di animali lattiferi, si dispone l'esecuzione dei controlli sulla produzione di latte

## ✓ Per Ocratossina A:

Al momento della macellazione dei suini consumatori dell'alimento contaminato, venga eseguito il prelievo di campioni di carne suina (muscolo, fegato, reni ecc.) e prodotti derivati.

## ✓ Nel caso di riscontro di livelli di contaminazione di zearalenone, DON, Fumonisine e tossine T-2 e HT-2 superiori a quelli indicati nelle specifiche Raccomandazioni

Si dispone di destinare il mangime contaminato alle specie meno sensibili, se del caso, a seguito di indagine epidemiologica e conseguente analisi del rischio.



***CONTAMINANTI E PRODUZIONI ZOOTECNICHE***

**Grazie per l'attenzione**

**Barbara De Santis**

**barbara.desantis@iss.it**

Reparto Sicurezza Chimica degli Alimenti

*Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria*

**Istituto Superiore di Sanità**



# Parametri tossicologici

Micotossina	Tolerable Daily Intake (TDI) Tolerable Weekly Intake (TWI)
Aflatossine	ALARA
Ocratossina	120 ng/kg p.c./settimana
T2+HT2	100 ng/kg pc/giorno
Zearalenone	200 ng/kg pc/giorno
Patulina	400 ng/kg pc/giorno
Deossinivalenolo	1000 ng/kg pc/ giorno
Fumonisine	2000 ng/Kg pc/giorno



# METABOLISMO E TOSSICITÀ

Le aflatossine sono metaboliti a elevata tossicità, sia acuta che cronica

- Cancerogena
- Mutagena
- Teratogena
- Epatotossica
- immunosoppressiva

**AFB1 classificato come cancerogeno per l' uomo di classe 1A dallo IARC**

Tra i metaboliti il più rilevante per la salute pubblica è l'AFM1

- Metabolita umano e animale dell'AFB1
- Si ritrova nel latte (*carry over*)

**AFM1 classificato come possibile cancerogeno per l' uomo di classe 2B dallo IARC**



# Bovini

## EFFETTI SULLA SALUTE E RESIDUI DI AFB1 NEI TESSUTI.

BIBLIOGRAFIA	AFB1 (µg/kg)	TEMPO di ESPOSIZIONE	EFFETTI	RESIDUI
Helferich (1986)**	60	2 mesi	no	si (fegato)
		5 mesi	no	no (adattamento metabolico)
	300	2 mesi	no	si (fegato)
		5 mesi	no	no (adattamento metabolico)
	600	2 mesi	si (lievi lesioni epatiche e modeste alterazioni delle transaminasi)	si (fegato)
		5 mesi	si (lievi lesioni epatiche e modeste alterazioni delle transaminasi)	no (adattamento metabolico)
Garrett (1968)**	100, 300,	133-196 giorni	no	si (inibizione della crescita, diminuzione dell'efficienza di alimentazione, ed aumento del peso di fegato e reni)
	700, e 1000			
Charoenpornsook (2006)	120	esposizione cronica	si (diarrea, mastite acuta, disturbi respiratori, inappetenza)	
Osweiler (1985)*	96-1700		si (lesioni epatiche)	si (fegato)
Queiroz (2012)	75	12	no	
Vaid (1981)*	110	7 giorni	si (lesioni epatiche)	si (fegato)

\* mangime naturalmente contaminato con AF

\*\* mangime formulato con semi di cotone.





# Suini

## EFFETTI SULLA SALUTE E RESIDUI DI AFB1 NEI TESSUTI.

BIBLIOGRAFIA	ANIMALE	AFB1 (µg/kg)	TEMPO	EFFETTI	RESIDUI
Gagné (1968)	suini adulti	51		si (ematici es. fosfatasi alcalina, urea)	
		233		no (performance e lesioni istopatologiche)	
		615		si (ematici es. fosfatasi alcalina, urea, performance e lesioni istopatologiche)	
Rustemeyer (2010)	suini piccoli	250/500	7-28-70 giorni	si (performance e parametri ematici)	
Devegowda (1998)	suini in finissaggio	200*		effetti dovuti più al tempo di esposizione che alla concentrazione di AFB1	
Silvotti (1997)	suini non svezzati**	800	25 giorni	si (sistema immunitario)	
Dilkin (2003)	suini svezzati	50	28 giorni	no (si in presenza di FB1 30 mg/kg)	
Jacobson (1975)	suini magroni	100	30 giorni		si in sangue e muscoli (<0,002 mg/kg)
Trucksess (1988)	suini adulti	400*	14 giorni		no previa interruzione dieta per 24h

\* mangime naturalmente contaminato con AFB1.

\*\*suini allattati da scrofe alimentate con mangime contaminato durante la gestazione e l' allattamento.

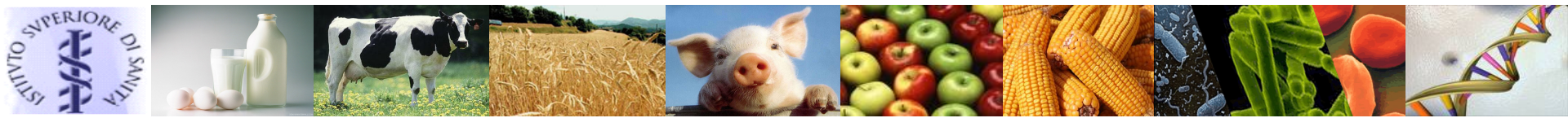


# Pollame

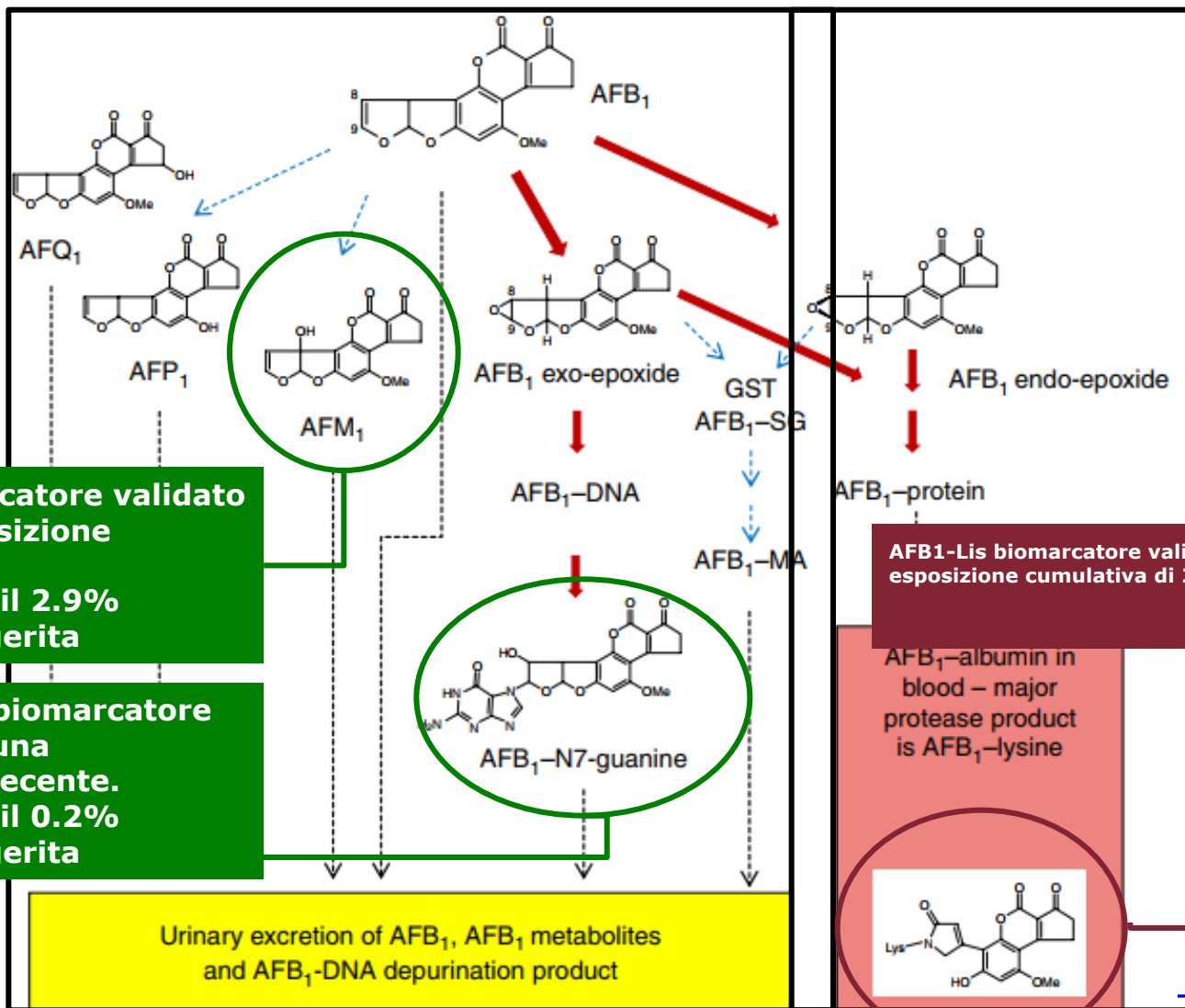
## EFFETTI SULLA SALUTE E RESIDUI DI AFB1 NEI TESSUTI.

BIBLIOGRAFIA	ANIMALE	AFB1 (µg/kg)	TEMPO	EFFETTI	RESIDUI
Arafa (1981)	pollo	700		no	
	pulcino anatra			si (crescita ridotta, mortalità)	
	pulcino tacchino			si (crescita ridotta, mortalità)	
Coker (1979)	pollo	500		si (lesioni epatiche)	
	anatra	30		si (lesioni epatiche)	
	tacchino	300		si (lesioni epatiche)	
Hussain (2010)	pollo	1600, 3200, 6400	7 giorni	si	si
Micco (1984)	polli e galline da uova	50	14-33 giorni		no
Chen (1983)	pollo	2057*	35 giorni		si in stomaco, fegato e reni (< 3 µg/kg) no se si interrompe dieta per 4 giorni
Hassan (2012)	gallina da uova	5000	3-5 giorni		si fegato (1,44 µg/kg), reni (0,25 µg/kg), muscolo (0,03 µg/kg) si nelle uova nessun residuo previa interruzione dieta per 5/6 giorni
Trucksess (1983)	gallina da uova	8000	7 giorni		si in reni, fegato, muscolo, sangue e uova (0,2 µg/kg) no in tessuti e nelle uova previa interruzione dieta per 7 giorni

\* mangime naturalmente contaminato con AFB1.



# METABOLISMO E TOSSICITÀ



# MICOTOSSINE NEI CEREALI

## USO DEI CEREALI

Use of cereals, excluding rice, in period 2015-2016 - figures for EU-28 (losses (market) not taken up in the table)

Cereal	% for human consumption	% for animal feed	% for seeds	% for industrial use
Total cereals (100 %)	23.0	<b>61.2</b>	3.4	11.7
Common wheat (42.4 %)	39.6	<b>46.4</b>	4.1	9.1
Durum wheat (3.2 %)	87.0	<b>6.6</b>	5.0	1.0
Rye (2.9 %)	37.4	<b>37.0</b>	5.0	19.7
Barley (17.0 %)	0.7	<b>75.3</b>	4.5	18.6
Oats (2.4 %)	16.4	<b>75.0</b>	6.1	1.5
Maize (26.0 %)	6.5	<b>77.2</b>	0.6	14.8
Triticale (4.3 %)	0.4	<b>90.3</b>	5.0	3.5
Other cereals (1.5 %)	0.6	<b>94.6</b>	1.5	2.4

Larga parte della produzione dei cereali è usata per l'alimentazione animale:

- Cereali per la produzione alimentare: i sottoprodotti → alimentazione animale
- Cereali per la bio-energia: i sottoprodotti → alimentazione animale
- Uso alternativo dei campioni di cereali *non conformi* per l'alimentazione umana: (solo) cereali "*non conformi*" → alimentazione animale (impatto economico)

