

CARLO BRERA*, CHIARA GUARINO**

Aflatossina B1 nel mais: aspetti normativi e valutazione dei residui nelle specie animali

INTRODUZIONE

Le micotossine occupano un ruolo di estrema rilevanza dal punto di vista sanitario, commerciale ed economico e continuano a essere al centro di dibattiti sia a carattere scientifico che normativo.

Sono ampiamente conosciute come contaminanti naturali derivanti dal metabolismo secondario di alcune specie fungine che colonizzano diversi alimenti. La contaminazione può avvenire durante tutta la filiera produttiva, ed è favorita da scenari climatici molto differenti caratterizzati da condizioni di caldo umido in alcuni casi ad altre in cui prevalgano condizioni di estrema siccità o di piovosità nel periodo di antesi. La presenza di micotossine non deve essere considerata un evento raro, basti pensare che secondo una stima effettuata dalla FAO ben un quarto della produzione mondiale di derrate destinate al consumo alimentare animale e umano risulta essere contaminato.

Questo dato, pertanto, non consente di sottovalutare l'impatto che la presenza delle micotossine esercita lungo tutta la filiera agro-alimentare, essendo in grado di esplicitare una serie di potenti azioni tossiche che causano, sia nell'animale che nell'uomo, un'ampia varietà di quadri patologici acuti e cronici.

Pertanto, la loro possibile presenza in molti alimenti costituisce da sempre una causa di crescente interesse e preoccupazione per la salute dei consumatori, motivo per il quale il loro monitoraggio volto alla prevenzione è sempre più sinonimo di sicurezza alimentare.

* *Istituto Superiore di Sanità – Dipartimento di Sanità Pubblica veterinaria e Sicurezza Alimentare, Roma*

** *Università di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Biologia*

Tra tutte le micotossine attualmente conosciute, oltre 300, l'aflatossina B1 (AFB1) è sicuramente la più nota per la sua diffusione e, soprattutto, per la sua elevata tossicità.

Viene prodotta da alcuni ceppi di *Aspergillus flavus* e di *Aspergillus parasiticus*, funghi che generalmente contaminano un numero rilevante di derrate alimentari, quali cereali, semi oleaginosi, spezie e frutta secca.

L'AFB1, per la sua azione genotossica ed epatocancerogena, è stata classificata dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) nel Gruppo 1 e considerata quindi come «agente cancerogeno per l'uomo».

Oltre all'uomo, è noto che anche gli animali alimentati con mangimi contaminati con l'AFB1 possono essere soggetti a una serie di reazioni patologiche denominate generalmente "aflatossicosi".

In particolare, si possono verificare danni a livello epatico e all'efficienza riproduttiva, riduzione del peso, anemia, ittero, e aumento della mortalità (Iheshiolor, 2011).

Inoltre, nel caso di galline ovaiole, l'esposizione ad AFB1 determina anche una considerevole riduzione della produzione di uova (Trucksess et al., 1983).

È importante considerare che una razione contaminata, oltre a incidere sulla salute dell'animale, può determinare in organi e tessuti, la presenza di residui di AFB1 come tale, o sottoforma dei suoi metaboliti come l'aflatossina M1 (AFM1), presente in prodotti quali il latte, o l'aflatossicolo presente nelle carni. La presenza della AFM1 nel latte si trasferisce nei prodotti lattiero-caseari in modo strettamente correlato al processo di caseificazione con fattori di concentrazione che variano a seconda della stagionatura e della componente proteica dei prodotti. L'aflatossicolo, prodotto dalla riduzione della AFB1, viene velocemente riconvertito ad AFB1 e ne costituisce quindi una riserva (Pompa, 1994; Yiannikouris e Jouany, 2002).

L'aflatossicosi animale e umana è quindi una problematica di forte attualità che può essere gestita solo attraverso una stretta collaborazione della comunità scientifica con gli organi legislativi che disciplinano i tenori massimi delle aflatossine consentiti nei prodotti destinati all'alimentazione umana (Regolamento UE 165/2010) e animale (Regolamento UE 574/2011).

A causa dei cambiamenti climatici, sempre più frequentemente si stanno manifestando nelle coltivazioni oscillazioni consistenti nelle contaminazioni di AFB1, così come di altre micotossine, con possibilità di alternanza tra campagne caratterizzate da assenza totale di rischio a campagne con elevato rischio agronomico e sanitario.

In base a questa peculiare caratteristica che da sempre è associata alla contaminazione da aflatossine e più in generale da micotossine, è facilmente

intuitibile quanto sia indispensabile ricorrere a un approccio olistico mirato al massimo contenimento e controllo dei fattori, ormai noti, responsabili dell'attacco fungino e della conseguente produzione di aflatossine.

Più specificatamente, l'utilizzo di indicatori meteorologici attraverso cui prevedere le condizioni climatiche nei periodi di maggiore rischio, di varietà resistenti, di opportuni fungicidi e insetticidi, di appropriati trattamenti di irrigazione, di corrette precessioni colturali, di strumenti di lotta biologica, di procedure di raccolta tecnologicamente avanzate e di mirate epoche e densità di semina sono solo alcune delle principali pratiche agricole che, se adeguatamente osservate, potrebbero portare a raggiungere importanti obiettivi nel controllo di questa classe di contaminanti.

C'è però da notare che la realtà produttiva, risente ancora di una certa lentezza nell'adottare in modo sistematico le azioni citate, ciò in relazione sia a un fatto culturale generalizzato sia alla effettiva necessità di capacità di impiegare forti investimenti nei percorsi produttivi a cui non corrisponde un adeguato riconoscimento economico seppur legato a un più alto livello di qualità sanitaria; dovrebbe inoltre essere considerato che le ingenti perdite economiche derivanti dalla presenza delle micotossine nelle coltivazioni dovrebbe indurre a una considerazione più equilibrata del rapporto rischio-beneficio. Altra condizione penalizzante è la scarsa conoscenza da parte del consumatore di questa possibile presenza nei prodotti alimentari che non alimenta pertanto una adeguata richiesta al mondo della produzione.

L'aflatossina B1, essendo come detto genotossica, non dovrebbe essere presente nei mangimi e nei prodotti alimentari, ma considerando la sua presenza come "naturale", la Commissione Europea tollera la presenza di questa micotossina raccomandando di mantenere la contaminazione ai livelli più bassi possibili (principio ALARA: *as low as reasonably achievable*).

Tale approccio non è universalmente adottato, infatti, negli Stati Uniti, ad esempio, il tenore ammesso è decisamente più alto (circa un fattore 10) rispetto a quello imposto dall'UE.

Questa discordanza, che si riflette prepotentemente negli scambi commerciali con Paesi terzi, genera quindi la necessità pressante di disporre di informazioni attendibili su cui basare i provvedimenti normativi e le azioni di gestione del rischio nel pieno rispetto delle esigenze produttive, economiche e sanitarie.

Per quanto attiene la presenza di aflatossina B1 nei mangimi, si deve ricordare che le fonti principali di rischio sono rappresentate dal mais e suoi sottoprodotti e dai semi di cotone. Le due matrici citate sono da considerare fortemente a rischio da aflatossina B1, soprattutto nei prodotti di importazione, e nel computo della concentrazione non si può escludere un fattore

addizionale che deve essere adeguatamente controllato per non produrre formulazioni mangimistiche con livelli di contaminazione eccedenti il limite previsto dal Regolamento 574/2011.

Pertanto un accurato controllo, in ambito aziendale, dei singoli fornitori unitamente ai controlli analitici per valutare la conformità delle materie prime sono sicuramente azioni da ritenersi altamente necessarie per garantire il benessere e la massima efficienza degli animali da un lato e la sicurezza alimentare per il consumatore di prodotti di origine animale dall'altro.

In merito a questi ultimi due aspetti, esiste una vastissima letteratura, in grado di fornire un background conoscitivo riguardante gli effetti sulla salute di animali alimentati con mangimi a base di mais contaminato con l'AFB1 in relazione alla dose e alle modalità e tempo di somministrazione.

Inoltre, sono stati effettuati anche studi incentrati sull'analisi di eventuali residui di AFB1 in tessuti quali fegato, muscolo e reni, degli animali alimentati con mais contaminato.

QUADRO NORMATIVO

La normativa sulle micotossine è materia in costante evoluzione, sia per le nuove conoscenze scientifiche apportate da continui studi nel settore, sia per le rilevanti ripercussioni che le misure adottate determinano negli scambi commerciali.

I limiti massimi tollerabili di aflatossine in prodotti destinati all'alimentazione umana sono riportati nel Regolamento UE 165/2010 (tab. 1), che reca modifiche al Regolamento CE/1881/2006 per quanto attiene i limiti massimi per alcune tipologie di frutta secca e spezie.

Si ricorda che secondo il Regolamento CE/1881/2006, non è consentito l'utilizzo di agenti chimici per la detossificazione e non è consentita la miscelazione di partite non conformi con quelle conformi.

Per quanto riguarda i mangimi, l'AFB1 è la sola micotossina normata sin dagli anni '80. Recentemente il Regolamento UE 574/2011 ha modificato la Direttiva comunitaria 2002/32 recepita in Italia con il Dlg. 149/2004. Nel Regolamento vengono stabiliti i limiti massimi tollerabili per la sola aflatossina B1 nelle materie prime, nei mangimi complementari e composti, o che siano destinati ad animali produttori di latte.

Tra le materie prime di impiego zootecnico che contengono maggiori quantità di aflatossine (tra cui arachidi e derivati, pannello di cocco, di palma,

PRODOTTO ALIMENTARE	AFB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
FRUTTA SECCA E A GUSCIO	
Mandorle, pistacchi e semi di albicocca da sottoporre a cernita	12,0
Arachidi, nocciole, noci del Brasile, da sottoporre a cernita	8,0
Mandorle, pistacchi e semi di albicocca destinati al consumo umano diretto	8,0
Altra frutta a guscio e frutta secca da sottoporre a cernita	5,0
Nocciole e noci del Brasile destinati al consumo umano diretto	5,0
Arachidi, frutta a guscio, frutta secca e relativi prodotti derivati destinati al consumo umano diretto	2,0
Altra frutta a guscio destinati al consumo umano diretto	2,0
CEREALI	
Granturco da sottoporre a cernita	5,0
Cereali e prodotti derivati eccetto granturco e alimenti per l'infanzia	2,0
Cereali e alimenti per lattanti e bambini	0,1
ALTRI ALIMENTI	
Spezie	5,0
Alimenti dietetici	0,1

Tab. 1 *Tenori massimi di AFB1 ammessi in prodotti destinati all'alimentazione umana come riportati nel Regolamento UE 165/2010*

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

Tab. 2 *Tenori massimi di AFB1 nei prodotti destinati all'alimentazione animale (Regolamento UE 574/2011)*

di lino, ecc.), il mais e i suoi derivati e i semi di cotone (germe di mais, glutine, semola glutinata) occupano un posto di primaria importanza.

Per questi prodotti è previsto un limite massimo tollerabile pari a 0,02 mg/kg, riferito a un livello di umidità del 12%.

Come precedentemente detto, secondo il principio ALARA, l'esposizione a un agente tossico deve essere mantenuta ai livelli più bassi possibili, compatibilmente con la natura del contaminante, la efficienza dei processi produttivi, tecnologici e industriali e le condizioni economiche e sociali.

Ad esempio nel caso dell'AFB1 nei mangimi, si suppone che se sono applicate le buone norme di coltivazione, la contaminazione delle materie prime può ragionevolmente essere inferiore a 0,02 mg/kg.

Inoltre, con il Regolamento 767/2009, la normativa europea ha previsto la possibilità che i mangimi contenenti livelli di sostanze indesiderabili superiori a quelle previste dalle disposizioni legislative, possano essere destinati all'alimentazione animale unicamente previa detossificazione in stabilimenti riconosciuti, il cui riconoscimento avviene ai sensi dell'articolo 10, paragrafi 2/3, del regolamento (CE) n. 183/2005 e recanti la dicitura «mangimi contenenti livelli eccessivi di ... (denominazione della sostanza o delle sostanze indesiderabili conformemente all'allegato I della direttiva 2002/32/CE). Pertanto, diversamente dal settore alimentare, non essendo espressamente dichiarato un divieto, si propende per l'adozione di una tacita approvazione per l'uso di agenti chimici per la detossificazione.

Inoltre, l'articolo 5 della medesima Direttiva stabilisce che gli Stati membri prescrivono che i prodotti destinati all'alimentazione degli animali in cui il contenuto di sostanza indesiderabile superi il livello massimo fissato nell'allegato I non possano essere mescolati, a scopo di diluizione, con lo stesso prodotto o con altri prodotti destinati all'alimentazione degli animali.

Una situazione nettamente diversa viene riscontrata nella normativa statunitense, dove tale limite risulta essere più elevato. Dai dati riportati in tabella 3, si può notare che la Food and Drug Administration (FDA) ha stabilito un limite di 300 µg/kg per mangimi a base di mais da destinare a vitelloni in finissaggio, di 200 µg/kg per mangimi a base di mais da destinare a suini in finissaggio e di 100 µg/kg per mangimi a base di mais da destinare a bovini da carne e suini riproduttori o a pollame adulto, e infine di 20 µg/kg per mais da utilizzare per animali immaturi. Quindi, a parte il caso dei mangimi destinati ad animali non ancora svezzati, in tutti gli altri casi il limite risulta essere almeno 5 volte maggiore di quello imposto dalla Comunità Europea.

Tale scelta è stata attuata in seguito a studi che hanno a suo tempo garantito la stessa come un buon compromesso tra effetti sulla salute dell'animale e l'impatto socio-economico, ma anche come conseguenza di un ormai noto diverso approccio non basato sul principio di precauzione.

Nel 1969, in mancanza di studi a riguardo, negli USA il livello di contaminazione consentito per il mais, così come per tutti gli altri ingredienti dei mangimi, era pari a 0,020 mg/kg, ovvero lo stesso attualmente in vigore nella Comunità Europea.

Solo vent'anni dopo, nel 1989, in seguito a ricerche sull'effettiva tollerabilità negli animali, la FDA ha alzato il limite per il mais da destinare a vitelloni, suini e polli. E appena un anno dopo, nel 1990, la FDA ha esteso tale limite anche alle arachidi e prodotti derivati da utilizzare come ingredienti dei mangimi.

MANGIME	AFB1 (mg/kg)
prodotti del granturco e delle arachidi da destinare a vitelloni in finissaggio	0,300
farina di semi di cotone da destinare a vitelloni, suini o pollame (a prescindere dall'età o dallo stato riproduttivo)	0,300
prodotti del granturco o delle arachidi da destinare a suini in finissaggio di 45 kg (100 libbre) o più;	0,200
prodotti del granturco e delle arachidi da destinare a bovini da carne e suini riproduttori o a pollame adulto	0,100

Tab. 3 *Tenori massimi consentiti di AFB1 nei mangimi disciplinati dalla FDA*

Ma è imperativo considerare che le disposizioni legislative vigenti in un Paese non possono però essere trasferite come tali in realtà differenti in quanto un dato scientifico necessita di studi mirati finalizzati alla verifica della attendibilità e della trasferibilità delle evidenze registrate alla situazione di riferimento.

A livello nazionale, questi studi non sono ancora stati effettuati in modo sistematico e pertanto deve essere mantenuta una linea precauzionale in attesa di evidenze scientifiche più robuste.

Inoltre, il Ministero della Salute, al fine di contenere “l'emergenza AFB1 2012”, ha recentemente divulgato una nota introducendo indicazioni sulla prevenzione e la gestione del rischio da aflatossina B1, da applicare per ridurre al minimo la presenza della micotossina non solo negli alimenti destinati all'uomo ma anche nei mangimi e ogni qualvolta si verifichino condizioni climatiche e ambientali tali da causare un incremento dei livelli di contaminazione nel mais e, di conseguenza nel latte e prodotti derivati.

Inoltre, tra le numerose misure di gestione, è stato ripreso quanto stabilito nel Regolamento 767/2009 fornendo agli operatori del settore mangimistico la possibilità che «Il mais destinato all'alimentazione animale, non conforme ai limiti fissati per l'aflatoxina B1, può essere destinato allo stabilimento che esegue i trattamenti fisici autorizzati a condizione che sia accompagnato da documento di trasporto/dichiarazione in cui si indica lo speditore, la quantità, il lotto, e che riporti la dicitura “mais semilavorato destinato alla detossificazione».

RESIDUI DI AFB1 IN SPECIE ANIMALI

Di seguito, si riporta un quadro riassuntivo dei principali risultati derivanti da studi condotti in alcuni Paesi per valutare la correlazione tra livelli di AFB1 somministrati con la dieta ed effetti clinici in ruminanti, in particolare

vitelloni in finissaggio e manzi, suini, svezzati e non, specie avicole quali polli, tacchini, anatre e galline ovaiole.

*Ruminanti nutriti con mais contaminato:
effetti sulla salute e residui di AFB1 nei tessuti*

In letteratura sono presenti diversi studi volti a individuare i possibili effetti sulla salute di ruminanti nutriti con mais contaminato con quantità variabili di AFB1.

Per quanto riguarda i vitelloni, un'importante studio (Helferich et al., 1986) ha evidenziato come tali animali, esposti a 60, 300 e 600 µg/kg di AFB1 aggiunto nei mangimi per periodi variabili dai 2 ai 5 mesi, non hanno riportato alterazioni delle performance zootecniche e neppure dei parametri ematici. Solo negli animali nutriti con mangime contaminato con 600 µg/kg di AFB1 sono comparse lievi lesioni epatiche e modeste alterazioni delle transaminasi.

In un altro studio (Garrett et al., 1968) sono stati alimentati dei manzi per 133-196 giorni con mais fortificato con 0, 100, 300, 700 e 1000 µg/kg di AFB1.

Dallo studio è emerso che solo nei manzi alimentati con 700 e 1000 µg/kg, sono stati osservati effetti negativi quali significativa inibizione della crescita, diminuzione dell'efficienza di alimentazione e un aumento del peso di fegato e reni. Non sono state, invece, osservate anomalie apparenti nei gruppi alimentati con 100 e 300 µg/kg di aflatoxina.

Risultati differenti sono stati riportati in una recente review (Iheshiulor et al., 2011), da cui emerge che, ad esempio, l'esposizione cronica derivante dalla somministrazione di mais naturalmente contaminato con 120 µg/kg di AFB1 ha evidenziato l'insorgere di gravi effetti sulla salute degli animali (Charoenpornsook et al., 2006).

Anche in un altro studio i vitelloni in finissaggio alimentati con mangimi naturalmente contaminati con concentrazioni di AFB1 comprese tra 96 a 1700 µg/kg sono stati considerati a rischio di aflatossicosi (Osweiler et al., 1985). La diagnosi è stata basata sulla correlazione di caratteristiche lesioni epatiche microscopiche, alta concentrazione di aflatoxine in mangimi, e l'isolamento e l'individuazione di AFB1 e del suo metabolita, l'aflatoxina M1, nelle urine e nel fegato dei vitelli interessati.

D'altra parte è importante considerare che altri autori, invece, non hanno evidenziato nessun danno a seguito di una dieta con mais fortificato con 75 µg/kg per 12 giorni (Queiroz et al., 2012).

BIBLIOGRAFIA	AFB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	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, 700, e 1000	133-196 giorni	no si (inibizione della crescita, diminuzione dell'efficienza di alimentazione, e aumento del peso di fegato e reni)	
Charoenpornsook (2006)	120*	esposizione cronica	si (diarrea, mastite acuta, disturbi respiratori, inappetenza)	
Oswailer (1985)	96-1700*		si (lesioni epatiche)	si (fegato)
Queiroz (2012)	75	12 giorni	no	
Vaid (1981)	110*	7 giorni	si (lesioni epatiche)	si (fegato)
* mangime naturalmente contaminato con AFB1. ** mangime formulato con semi di cotone.				

Tab. 4 *Effetti e residui di AFB1 in bovini nutriti con mangime contaminato*

Per quanto riguarda la possibilità di trovare residui di AFB1 nei tessuti, in uno studio precedentemente citato sono stati analizzati il fegato, i muscoli e il grasso e non sono state trovate concentrazioni di AFM1 nel fegato di tutti i vitelloni in esame (Helferich et al., 1986). Un dato particolarmente interessante è che nelle biopsie effettuate dopo il quinto mese di esposizione non è stato però rinvenuto alcun residuo. Ciò può essere un importante indice che testimonia una sorta di adattamento metabolico degli animali.

In un'altra ricerca gli autori hanno studiato la presenza di residui nel caso di intossicazione cronica con 110 $\mu\text{g}/\text{kg}$ di AFB1 naturalmente presente nel mangime in manzi e hanno riscontrato la presenza della micotossina nel fegato (Vaid et al., 1981).

Pertanto, dall'analisi delle informazioni schematizzate nella tabella 4, l'esposizione cronica di bovini a concentrazioni di AFB1 nella dieta inferiori

a 75 µg/kg sembrerebbe non determinare sostanziali danni alla salute degli animali e alle loro performance zootecniche.

Tale concentrazione sembrerebbe inoltre non causare la presenza di residui nei tessuti a eccezione del fegato.

*Suini nutriti con mais contaminato:
effetti sulla salute e residui di AFB1 nei tessuti*

Per quanto riguarda i suini, in uno studio condotto diversi anni fa, dopo aver esposto gli animali dallo svezzamento sino al peso di macellazione a diversi livelli di AFB1, è stata individuata come concentrazione limite, per evitare effetti a carico delle performance zootecniche dell'animale e lesioni istopatologiche, un valore pari a 233 µg/kg (Gagné et al., 1968). D'altra parte concentrazioni pari a 51 µg/kg hanno comunque causato piccole alterazioni di alcuni parametri biochimici quali fosfatasi alcalina, e urea, così come concentrazioni pari o superiori a 615 µg/kg hanno provocato lesioni istopatologiche.

Diversi studi più recenti hanno evidenziato che concentrazioni di AFB1 maggiori di 200 µg/kg comportano effetti sulle performance zootecniche di suini (Rustemeyer, 2010; Devegowda, 1998; Silvotti, 1997).

Un'altra ricerca ha studiato gli effetti dovuti a esposizione orale cronica di AFB1 in suini svezzati (Dilkin, 2003). Gli animali alimentati per 28 giorni con razioni di mangime a cui sono stati aggiunti 50 µg/kg di AFB1 non hanno riportato alcun effetto.

È comunque importante notare che nel caso di mangimi contaminati con 50 µg/kg di AFB1 e 30 mg/kg di fumonisina B1 si è verificata una perdita delle performance zootecniche, evidenziando un effetto sinergico delle due micotossine.

Per quanto riguarda i residui in fegato, muscolo, sangue e rene in uno studio del 1975 sono stati esposti suini magroni a concentrazioni di AFB1 variabili da 0 a 400 µg/kg per 30 giorni (Jacobson et al., 1975). Gli autori hanno in seguito riscontrato nei soggetti esposti a 100 µg/kg, tracce di AFB1 in sangue e muscoli, pari a 0,19 e 0,17 µg/kg. In una successiva ricerca, invece, sebbene i suini siano stati alimentati con mais naturalmente contaminato con 400 µg/kg di AFB1 per 14 giorni, non sono stati trovati residui dopo 24 ore dall'interruzione della dieta (Trucksess et al., 1998).

Quindi, considerando i dati riassunti in tabella 5, l'esposizione cronica di suini svezzati a concentrazioni di AFB1 nella dieta non superiori a 50 µg/

BIBLIOGRAFIA	ANIMALE	AFB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	TEMPO	EFFETTI	RESIDUI
Gagné (1968)	suini adulti	51		si (ematichi es. fosfatasi alcalina, urea) no (performance e lesioni istopatologiche)	
		233		si (ematichi es. fosfatasi alcalina, urea) no (performance e lesioni istopatologiche)	
		615		si (ematichi es. fosfatasi alcalina, urea, performance e lesioni istopatologiche)	
Rustemeyer (2010)	suini piccoli	250/500	7-28-70 giorni	si (performance e parametri ematici) effetti dovuti più al tempo di esposizione che alla concentrazione di AFB1	
Devegowda (1998)	suini in finissaggio	200*		si (sistema immunitario e crescita ridotta)	
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.					

Tab. 5 *Effetti e residui di AFB1 in suini nutriti con mangime a base di mais contaminato*

kg molto probabilmente non determina danni alla salute degli animali e alterazioni delle loro performance zootecniche e può comportare la presenza di residui di AFB1 molto inferiori a 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ovvero inferiori al limite di legge attualmente in vigore (Regolamento UE 165/2010).

Specie avicole nutrite con mais contaminato: effetti sulla salute e residui di AFB1 nei tessuti e nelle uova

Le specie avicole prese in considerazione hanno riguardato in particolare polli, tacchini e anatre. Diversi studi, riportati nella tabella 6, hanno evidenziato la differente sensibilità delle varie specie. In particolare una ricerca ha eviden-

BIBLIOGRAFIA	ANIMALE	AFB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	TEMPO	EFFETTI	RESIDUI
Arafa (1981)	pollo	700		no	
	pulcino anatra			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 ($< 3 \mu\text{g}/\text{kg}$) no se si interrompe dieta per 4 giorni
Hassan (2012)	gallina da uova	5000	3-5 giorni		si fegato (1,44 $\mu\text{g}/\text{kg}$), reni (0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$), muscolo (0,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 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 $\mu\text{g}/\text{kg}$) no in tessuti e nelle uova previa interruzione dieta per 7 giorni

* mangime naturalmente contaminato con AFB1.

Tab. 6 Effetti e residui di AFB1 in volatili nutriti con mangime a base di mais contaminato

ziato l'insorgenza di danni al fegato in anatre esposte a 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ di AFB1, in tacchini esposti a 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ e in polli solo se esposti a 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Coker et al., 1979). Il pollo risulterebbe quindi essere il volatile più resistente anche per altri ricercatori che esponendo a 700 $\mu\text{g}/\text{kg}$ di AFB1 nella dieta, non hanno evidenziato effetti, mentre si è rilevata una diminuzione significativa della crescita in pulcini di tacchino e anatra, causando in questi anche un certo grado di mortalità (Arafa et al., 1981).

Altri studi, alcuni piuttosto recenti, evidenziano che alte concentrazioni di AFB1 (>500 µg/kg) provocano nel pollo effetti clinici negativi e residui in fegato, reni e stomaco (Agha et al., 2011; Hussain et al., 2010). Non vi sono effetti e/o residui a concentrazioni di AFB1 inferiori a 100 µg/kg. Ad alte concentrazioni (> 2000 µg/kg) si registra la presenza di residui nelle uova (Chen et al, 1983; Hassan et al., 2012; Trucksess et al., 1983), che, invece, non si ritrovano a concentrazioni minori di 50 µg/kg, sicuramente più rappresentative della realtà, o se viene interrotta la dieta contaminata (Micco et al., 1984). Nei pulcini di anatra e tacchino vi sono effetti patologici anche a concentrazioni più basse (30 µg/kg).

Quindi l'esposizione cronica di polli a concentrazioni di AFB1 nella dieta inferiore a 100 µg/kg non dovrebbe determinare danni alla salute degli animali e alle loro performance zootecniche, e sembrerebbe non comporti la presenza di residui nei tessuti e nelle uova.

Diverso il caso di pulcini di anatra e tacchino, dove invece, per non avere effetti patologici è necessario che l'AFB1 non superi 30 µg/kg di concentrazione.

CONCLUSIONI

Dalla letteratura si evince che gli effetti dell'AFB1 su talune specie animali esposte alla tossina tramite una dieta basata su mais contaminato possono portare, a dosi tra 100 e 200 µg/kg, danni alla salute degli animali, mentre utilizzando mangimi contaminati con 75 µg/kg di AFB1 per i ruminanti, con 50 µg/kg per i suini e con 100 µg/kg per il pollame adulto, non si dovrebbero registrare danni alla salute degli animali né presenza di residui in tessuti e organi.

Considerando i limiti della FDA, che sono notevolmente più alti di quelli citati, sorgono, pertanto, alcune incertezze sulla attendibilità degli studi comprovanti la assoluta innocuità per la salute degli animali.

Inoltre, è necessario considerare che alcuni di questi studi non sono stati condotti utilizzando mais o mangimi naturalmente contaminato, per cui la clearance dell'AFB1 nell'animale potrebbe essere diversa e questi livelli potrebbero comunque rappresentare un rischio per la salute delle specie animali bersaglio, e conseguentemente per l'uomo.

Inoltre è bene sottolineare che nella pratica zootecnica il mangime può essere composto non esclusivamente da mais, ma anche da altre materie prime che potrebbero contenere anch'esse sia l'AFB1, sia anche altre micotossine

con possibili effetti tossici sinergici, come rilevato ad esempio nello studio sui suini precedentemente citato (Dilkin, 2003) dove la presenza di un'altra micotossina, la fumonisina B1, ha causato l'insorgenza di danni alla salute degli animali esposti.

Un altro dato importante da valutare è il tempo di esposizione, che in alcune delle ricerche prese in esame è stato troppo limitato per poter valutare la tossicità cronica.

D'altra parte in alcuni studi è stato fornito un dato fondamentale, ovvero il tempo di sospensione della dieta necessario per ridurre gli effetti e limitare i residui dell'aflatossina.

Pertanto, allo stato attuale delle conoscenze, è necessario acquisire informazioni più aggiornate su alcuni aspetti di fondamentale importanza più strettamente correlati alle condizioni in cui gli animali sono alimentati, come tempo e dose di somministrazione, individuazione di fonti nutrizionali alternative al mais, valutazione degli effetti sinergici dovuti alla co-presenza di più micotossine, tempi di sospensione della dieta contaminata, livelli di concentrazione dei residui nelle parti edibili, caratterizzazione della presenza di forme metaboliche derivanti dalla biotrasformazione in vivo della AFB1, come ad esempio l'aflatossicolo.

A completamento della informazione, si deve inoltre considerare che, accanto ai rilievi scientifici esposti, l'iter procedurale per la risoluzione di qualsiasi istanza alla Commissione Europea, necessita di un tempo che oscilla tra i sei e i dodici mesi, rendendo di fatto inattuabile, al momento, qualsiasi azione che possa portare elementi aggiuntivi per gestire la attuale situazione di emergenza.

RINGRAZIAMENTI

Cristina Barea Toscan per l'assistenza tecnica prestata.

RIASSUNTO

L'aflatossina B1 (AFB1) è una micotossina che contamina un'ampia varietà di alimenti tra cui il mais. È il più potente agente naturale epatotossico e mutageno sia per l'uomo, che per diverse specie animali. Come conseguenza del consumo di elevate quantità di mais, sono stati rilevati molteplici reazioni avverse in animali da allevamento intensivo quali pollame, suini e bovini. Inoltre, a causa del meccanismo di carry over, l'AFB1 può essere trovata come tale o sottoforma dei suoi principali metaboliti, come residuo nella

carne, nelle uova e nel latte di animali e può costituire una minaccia per la salute umana. Per questi motivi molti Paesi hanno stabilito dei limiti normativi che disciplinano il tenore di AFB1 nei mangimi, sebbene tali livelli siano spesso molto diversi tra loro. Il nostro obiettivo è stato quello di fornire una panoramica delle ricerche sugli effetti sulla salute e i residui nei tessuti e organi di bovini, suini e pollame derivanti dal consumo di mangimi prodotti con mais contaminato con AFB1. Sono stati considerati anche studi riguardanti eventuali residui nelle uova.

ABSTRACT

Aflatoxin B1 (AFB1) is the most potent hepatocarcinogenic mycotoxin naturally occurring in a wide variety of feedstuffs including corn. It is also a mutagenic agent to humans and several animal species. As a consequence of the consumption of high levels of corn with the diet, several adverse effects have been recognized in intensively farmed animals such as poultry, swine and cattle. Moreover, due to the carry over mechanism, parent AFB1 and/or its metabolites may be found as a residue in meat, egg and milk of some animal species and can pose a threat to human health. Due to these reasons, many countries have established regulatory limits that restrict AFB1 level in feed, although these are often very different.

Our aim is to give an overview of research studies about the effects on animal health and the residues in tissues of cattle, swine and poultry consuming AFB1 contaminated corn-based diet. Residues in eggs are reported too.

BIBLIOGRAFIA

- AGHA W.J., RAZZAZI-FAZELI E., BOHM J. (2011): *Aflatoxin B1 in Affecting Broiler's Performance, Immunity, and Gastrointestinal Tract: A Review of History and Contemporary Issues*, «Toxins», 3 (6), pp. 566-590.
- ARAF A.S., BLOOMER R.J., WILSON H.R., SIMPSON C.F., HARMS R.H. (1981): *Susceptibility of various poultry species to dietary aflatoxins*, «British poultry science», 22, pp. 431-436.
- CHAROENPORNSOOK K., KAVISARASAI P. (2006): *Mycotoxins in animal feedstuff of Thailand*, «KMILT Sci.Tech. J.», 6, pp. 25-28.
- CHEN C., PEARSON A.M., COLEMAN T.H., GRAY J.I., PESTKA J.J., AUST S.D. (1983): *Tissue deposition and clearance of aflatoxins from broiler chickens fed a contaminated diet*, «Am. J. Vet. Res.», 44, pp. 1750-1752.
- COKER R.D. (1979): *Aflatoxin: past, present and future*, «Tropical science», 21, pp. 143-162.
- DECRETO LEGISLATIVO 149/2004: Decreto Legislativo N. 149/2004 del 10 maggio 2004, riguardante l'attuazione delle direttive 2001/102/CE, 2002/32/CE, 2003/57/CE e 2003/100/CE, relative alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nell'alimentazione degli animali, «Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n. 139 del 16-6-2004».

- DEVEGOWDA G., RADU M.V.L., NAZAR A., SWAMY H.V.L.M. (1998): *Mycotoxin picture worldwide: Novel solutions for their counteraction. Proceedings of Alltech's 14th Annual Symposium on Biotechnology in Feed Industry: Passport of the Year 2000*, Nottingham University Press, Sheffield (England), pp. 241-255.
- DILKIN P., ZORZETE P., MALLMANN C.A., GOMES J.D.F., UTIYAM C.E., OETTING L.L., CORRÊA B. (2003): *Toxicological effects of chronic low doses of aflatoxin B1 and fumonisin B1-containing Fusarium moniliforme culture material in weaned piglets*, «Food and Chemical Toxicology», 41, pp. 1345-1353.
- DIRETTIVA 2002/32/CE: Direttiva (CE) N. 32/2002 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 7 Maggio 2002 relativa alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali, «Gazzetta Ufficiale della Unione Europea», L 140/10.
- GAGNÉ W.E., DUNGWORTH D.L., MOULTON J.E. (1968): *Pathologic effects of aflatoxin in pigs*, «Pathol. Vet.», 5, pp. 370-384.
- GARRETT W.N., HEITMAN JR. H.A.N. (1968): *Booth Aflatoxin Toxicity in Beef Cattle*, «Proc. Soc. Exp. Biol. Med.», 127, pp. 188-190.
- HASSAIN Z.U., KHAN M.Z., KHAN A., JAVED I., HUSSAIN Z. (2012): *Effects of individual and combined administration of ochratoxin A and aflatoxin B1 in tissues and eggs of White Leghorn breeder hens*, «J. Sci. Food Agric.», 92, pp. 1540-1544.
- HELFERICH W.G., GARRETT W.N., HSIEH D.P.H., BALDWIN R.L. (1986): *Feedlot performance and tissue residues of cattle consuming diets containing aflatoxins*, «J. Anim. Sci.», 62, pp. 691-696.
- HUSSAIN Z., KHAN M.Z., KHAN A., JAVED I., SALEEMI M.K., MAHMOOD S., ASI M.R. (2010): *Residues of aflatoxin B1 in broiler meat: effect of age and dietary aflatoxin B1 levels*, «Food and Chemical Toxicology», 48, pp. 3304-3307.
- IHESHIULOR O.O.M., ESONU B.O., CHUWUKA O.K., OMEDE A.A., OKOLI I.C., OGBUEWU I.P. (2011): *Effects of Mycotoxins in Animal Nutrition: A Review*, «Asian Journal of Animal Sciences», 5, pp. 19-33.
- JACOBSON M., REFFERN R.E., MILLS G.D. JR. (1975): *Naturally occurring insect growth regulators. II Screening of insect and plant extracts as juvenile hormone mimics*, «Lloydia», 38, pp. 455-472.
- MICCO C., MIRAGLIA M., ONORI R., BRERA C., MANTOVANI A., IOPPOLO A., STASOLLA D. (1984): *Long-term administration of low doses of mycotoxins to poultry. 1. Residues of aflatoxin B1 and its metabolites in broilers and laying hens*, «Food Chem. Toxicol.», 22, pp. 447-451.
- OSWEILER G.D., TRAMPEL D.W. (1985): *Aflatoxicosis in feedlot cattle*, «J. Am. Vet. Med. Assoc.», 187, pp. 636-637.
- QUEIROZ O.C., HAN J.H., STAPLES C.R., ADESOGAN A.T. (2012): *Effect of adding a mycotoxin-sequestering agent on milk aflatoxin M1 concentration and the performance and immune response of dairy cattle fed an aflatoxin B1-contaminated diet*, «J. Dairy Sci.», 95, pp. 5901-5908.
- REGOLAMENTO UE 165/2010: Regolamento (UE) N. 165/2010 della Commissione del 26 Febbraio 2010 recante modifica, per quanto riguarda le aflatoxine, del Regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, «Gazzetta Ufficiale della Unione Europea», L 50/8.
- REGOLAMENTO CE/1881/2006: Regolamento (CE) N. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, «Gazzetta Ufficiale della Unione Europea», L 364/5.
- REGOLAMENTO UE 574/2011: Regolamento (UE) N. 574/2011 della Commissione del

- 16 Giugno 2011 che modifica l'allegato I direttiva 2002/32/CE relativa alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali, «Gazzetta Ufficiale della Unione Europea», L 159/7.
- RUSTEMEYER S.M., LAMBERSON W.R., LEDOUX D.R., ROTTINGHAUS G.E., SHAW D.P., COCKRUM R.R., KESSLER K.L., AUSTIN K.J., CAMMACK K.M. (2010): *Effects of dietary aflatoxin on the health and performance of growing barrows*, «J. Anim Sci.», 88, pp. 3624-3630.
- SILVOTTI L., PETTERINO C., BONOMI A., CABASSI E. (1997): *Immunotoxicological effects on piglets of feeding sows diets containing aflatoxins*, «Vet. Rec.», 141, pp. 469-472.
- TRUCKSESS M.W., STOLOFF L., BRUMLEY W.C., WILSON D.M., HALE O.M., SANGSTER L.T., MILLER D.M. (1988): *Aflatoxicol and aflatoxins B1 and M1 in the tissues of pigs receiving aflatoxin*, «Food Addit. Contam.», 5, pp. 303-308.
- TRUCKSESS M.W., STOLOFF L., YOUNG K., WYATT R.D., MILLER B.L. (1983): *Aflatoxicol and aflatoxins B1 and M1 in eggs and tissues of laying hens consuming aflatoxin-contaminated feed*, «Poult. Sci.», 62, pp. 2176-2182.
- YUNUS A.W., RAZZAZI-FAZELI E., BOHM J. (2011): *Aflatoxin B1 in Affecting Broiler's Performance, Immunity, and Gastrointestinal Tract: A Review of History and Contemporary Issues*, «Toxins», 3, pp. 566-590.
- VAID J., DAWRA R.K., SHARMA O.P., NEGI S.S. (1981): *Chronic aflatoxicosis in cattle*, «Veterinary & Human Toxicology», 23, pp. 436-438.

Finito di stampare in Firenze
presso la tipografia editrice Polistampa
nell'agosto 2013