

INDICAZIONI AGLI ALLEVATORI PER INTERVENTI NELL'IMMEDIATO

Comitato Scientifico AIA

Gruppo di lavoro: Pietri A.¹ (Coordinatore), Bernabucci U.², Reyneri A.³, Visconti A.⁴

PREMESSA

Le micotossine sono metaboliti secondari, tossici per gli animali superiori, prodotti da muffe che colonizzano gli alimenti.

In condizioni favorevoli allo sviluppo di funghi tossigeni, le micotossine possono essere formate in una qualunque delle fasi di produzione e di trasformazione di un prodotto alimentare. In particolare, le micotossine possono essere prodotte nelle piante infette in pieno campo; nel corso delle operazioni di raccolta; nelle derrate immagazzinate (stoccaggio, trasporto); nel corso delle trasformazioni tecnologiche e delle preparazioni alimentari.

Le conseguenze della presenza di contaminazioni da micotossine nelle derrate alimentari sono evidenti essenzialmente negli allevamenti zootecnici, ma esse hanno un impatto non trascurabile anche sulla salute umana. Negli allevamenti, le micotossine sono responsabili sia di micotossicosi sub-acute che acute. Di gran lunga più frequenti sono le manifestazioni sub-acute o croniche che, compromettendo lo stato di salute degli animali, riducono le loro attività vitali e quindi le produzioni zootecniche.

Diverse ricerche condotte su specie di interesse zootecnico, hanno consentito di stabilire quale sia il rischio di trasmissione delle varie micotossine o di loro metaboliti tossici in carne, latte e uova: tale rischio è reale solamente per l'aflatossina M₁ nel latte e per l'ocratossina A nelle carni suine.

Le aflatossine

Le aflatossine (AF) sono un gruppo di micotossine prodotte da ceppi di *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*. Le AF che vengono riscontrate negli alimenti di origine vegetale sono quattro: B₁, B₂, G₁, G₂; le B sono prodotte sia da *A. flavus* che da *A. parasiticus*, mentre le G sono prodotte solo dal secondo.

Nella maggior parte dei casi, la AFB₁ è quella presente in maggior quantità e sulla quale è stato focalizzato l'interesse dei ricercatori per via della sua elevata tossicità acuta e cronica e per l'attività cancerogena che esplica sugli animali, oltre che per i potenziali effetti sull'uomo.

Gli alimenti che contengono AF con maggior frequenza sono: arachidi e derivati, mais e derivati, noci brasiliane, pistacchi, mandorle, fichi secchi, alcune spezie (peperoncino); ma va ricordato che una cattiva conservazione può far comparire le AF anche in prodotti non considerati a rischio. Le AF provocano il cancro del fegato e a volte anche del rene, in tutte le specie animali studiate; l'AFB₁ è l'epatocancerogeno, attivo *per os*, più potente che si conosca.

Per l'Italia, le AF sono soprattutto un problema connesso con l'importazione di derrate da paesi a clima caldo e umido, mentre la contaminazione dei prodotti locali è (o era) meno frequente e a livelli piuttosto contenuti sia per motivi climatici che per le migliori tecniche agronomiche, di raccolta e di conservazione dei prodotti stessi. L'UE ha emanato regolamenti (1525/98 e il 466/01) che fissano il tenore massimo di AF in frutta secca, cereali e derivati: sono tollerati 2 e 4 µg/kg (microgrammi/kg,

1 Univ. PC

2 Univ. VT

3 Univ. TO

4 Ist. Micotossine CNR BA

ppb) rispettivamente di AFB₁ e AF totali.

Diverse materie prime destinate all'alimentazione animale è [mais e derivati(semola glutinata, glutine, germe), farine e panelli di cocco, cotone, palmisto, farina di estrazione di soia] sono frequentemente contaminate da AF; la popolazione umana può quindi essere indirettamente esposta all'AF per il consumo di latte prodotto da animali che hanno ingerito alimenti contaminati. Durante il processo digestivo, l'AF viene in parte assorbita e trasportata al fegato, dove viene metabolizzata, dando origine a diversi idrossi-derivati che finiscono nel circolo sanguigno e vengono poi eliminati tramite l'urina e la bile (o il latte).

Aflatossina M₁

Numerose ricerche, hanno consentito di stabilire il rapporto tra concentrazione di AFB₁ nella dieta e livello di AFB₁ o dei metaboliti presenti nei tessuti. La quantità rilevabile nei tessuti è quasi sempre trascurabile, tranne che per l'AFM₁ nel latte. L'aflatossina M₁ (AFM₁, "milk toxin") è stato il primo metabolita della B₁ ad essere identificato. Tutti i mammiferi che ingeriscono AFB₁, ne eliminano una quota come AFM₁ nel latte; nel caso della vacca da latte, la quota eliminata è dell'1-3% di quella ingerita. L'AFM₁, che ha una struttura simile a quella della B₁, ha evidenziato una tossicità acuta paragonabile a quella della molecola da cui deriva, mentre la cancerogenicità epatica (verificata sulla trota e sul ratto) è all'incirca del 2-8% rispetto alla B₁.

Lo IARC (Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro) ha classificato numerose sostanze in base all'intensità dell'effetto cancerogeno e tra queste le AF e altre tossine; la classificazione è la seguente:

1 = cancerogena per l'uomo

2A = probabilmente cancerogena per l'uomo

2B = possibilmente cancerogena per l'uomo.

3 = non classificabile come cancerogena per l'uomo.

La AFB₁ ha come classificazione 1, la AFM₁ è stata classificata come 2B.

Dal 01.01.99 nella UE è entrato in vigore un limite di 50 nanogrammi/kg (parti per trilione, ppt) per l'aflatossina M₁ (Regolamento 1525/98). Questo limite venne introdotto prima dalla Svizzera e poi da altri paesi, giustificandolo con la considerazione che la dose giornaliera tale da produrre un rischio di 1:10⁶ è dell'ordine di 1-10 ng/individuo: pertanto, la concentrazione accettabile di AFM₁ nel latte deve essere inferiore ad alcune decine di ng/litro.

Se in una azienda viene prodotto latte con una concentrazione di AFM₁ che eccede i 50 ng/kg, il Regolamento proibisce la diluizione con altro latte, per rientrare nel limite.

In base alle nostre conoscenze attuali, il rischio derivante dall'assunzione di queste quantità di aflatossine è estremamente ridotto; tuttavia, la presenza dell'AFM₁ nel latte desta qualche preoccupazione, perché riguarda un alimento di largo consumo e indispensabile per l'infanzia, fase della vita nella quale le difese immunitarie non hanno ancora raggiunto la loro massima espressione. L'AFM₁ è legata alla frazione proteica del latte, per cui è presente nei formaggi e in altri latticini prodotti con latte contaminato: i livelli di contaminazione sono di 3-4 volte superiori rispetto al latte di partenza.

Oggi il problema è anche quello dell'immagine. Il latte ed i prodotti lattiero-caseari in genere hanno un'elevata immagine commerciale e nessuno del settore vuole che scada: purtroppo, un'informazione non scientificamente obiettiva sull'argomento da parte dei *media* potrebbe procurare un allarme e influenzare i consumi.

Aflatossina B₁ nei mangimi

Per limitare il livello di AFM₁ nel latte, in tutti i paesi della UE è stato fissato un limite di 5 µg/kg (ppb) di AFB₁ per i mangimi destinati alle bovine in lattazione, ma vi è un limite anche sulle materie

prime (20 ppb). Tuttavia, anche rispettando questo limite, non si è sicuri di rientrare nei 50 ng/kg di M₁ nel latte.

Il passaggio dell'aflatossina nel latte

Quanto è il cosiddetto *carry-over*, cioè la percentuale di AFB₁ che finisce nel latte come AFM₁?

Sono state fatte molte ricerche, che possono essere così riassunte (Veldman *et al.* 1992):

- Elevata variabilità individuale tra gli animali
- Inizio lattazione: carry-over 3,3-3,5 volte maggiore rispetto a lattazione avanzata (superiore al differente livello produttivo)
- Le infezioni della mammella influenzano il carry-over
- Sull'insieme della mandria:

$$AFM_1(\text{ng/kg latte}) = 1,19 \times (\mu\text{g di AFB}_1 \text{ ingeriti/capo/giorno}) + 1,9$$

- Ingestione media di AFB₁ inferiore a 40 μg/capo/giorno se si vuole produrre latte con AFM₁ < 50 ng/kg
- I limiti relativi all'inquinamento di alimenti zootecnici da AFB₁ dovrebbero scendere a 5 ppb per le materie prime (mais e derivati in particolare).

Questa è una situazione media, cioè quando gli animali ingeriscono una quantità costante di AF. Va tenuto presente che le variazioni sono molto rapide: se si somministra una razione contaminata, l'AFM₁ comparirà nel latte già nella mungitura successiva, anche se ci vogliono due o tre giorni perché il livello diventi più o meno costante; se poi si somministra una razione esente da AF, i livelli nel latte diminuiscono dalla mungitura successiva e vanno a zero in 2-3 giorni.

INDICAZIONI TECNICHE PER INTERVENIRE NELL'IMMEDIATO

L'andamento climatico del 2003 (estate calda e siccitosa), ha favorito lo sviluppo del fungo produttore di AFB₁ (*A. flavus*). Il mais e i suoi sottoprodotti di produzione nazionale sono pertanto frequentemente contaminati, molto più che in passato; anche altri cereali e farine di estrazione di girasole, di lino, di soia e altri sottoprodotti possono presentare contaminazioni, anche se di solito a livelli molto contenuti. Si ritiene pertanto di fornire le seguenti indicazioni:

1. Monitoraggio latte: ogni 15 giorni (e ad ogni modifica della razione) verifica del livello di AFM₁ nel latte presso un laboratorio di fiducia. Va tenuto presente che l'AFM₁ nel latte è la valutazione più attendibile del livello di AFB₁ nella razione.

2. Monitoraggio di trinciato integrale di mais e pastone e di granella di mais e derivati integrali della granella:

2.1 Trinciato integrale di mais e pastone

Ricordare innanzitutto che:

1. per effettuare le analisi dei prodotti con metodi analitici HPLC si deve considerare che
 - il dato è valido se si opera un campionamento corretto e rappresentativo;
 - nel tempo intercorso dal prelievo all'analisi il campione va mantenuto surgelato se presenta un'umidità che non consente di stabilizzare il prodotto;
2. i risultati di una sola analisi devono essere confrontati con quelle ottenute in condizioni simili nella zona, al fine di ridurre gli errori di interpretazione o le conseguenze di un prelievo errato o, sebbene siano rari, di errori in fase di analisi (falsi positivi o negativi);
3. ricordare che nell'insilato alla maturazione cerosa le alterazioni, dovute alla presenza di muffe tossigene produttrici di aflatossine, non si vedono. Non fidarsi quindi delle apparenze.

Nel caso sia accertata la presenza di aflatossine, o nel caso di un numero elevato di positività nella zona

in condizioni di coltivazione e conservazione simili, occorre:

- a. eliminare tutte le parti che presentano deterioramento aerobico per la maggior probabilità di presenza di elevate concentrazioni di aflatossine in quei punti;
- b. anche in assenza di alterazioni aerobiche riconoscibili, scartare le parti meno compattate durante il caricamento. Per insilati in trincea le parti superiori prossime alle spallette, per i cumuli tutta la porzione superiore del “cappello”;
- c. aumentare la profondità di avanzamento del fronte del trinciato: oltre 10-20 cm rispettivamente in inverno e quando la temperatura ambientale superi 15 °C di T massima giornaliera.
- d. scoprire l’insilato sollevando il telo lo stretto necessario e curare di ricoprire il fronte con il telo stesso in caso di piogge intense;
- e. nel caso siano presenti in azienda più cumuli o trincee e che la velocità di avanzamento sia adeguata, destinare alle vacche da latte gli insilati ottenuti con trinciature effettuate più tardi (es. settembre) e a capi meno sensibili quelli ottenuti con trinciature effettuate più precocemente (es. agosto). Questo perché il contenuto di micotossine formato in campo e nelle prime fasi dell’insilamento è maggiore con maturazioni della pianta e formazione del silo avvenute in condizioni di elevate temperature;
- f. distribuire propionato (0,03-0,04 %) nella porzione superiore del cumulo o della trincea soprattutto nel caso il prodotto insilato presenti un contenuto di s.s. superiore al 35% per ovviare alle difficoltà di compattazione;

2.2 Granella di mais e derivati integrali della granella

Ricordare innanzitutto i punti da 1 a 3 elencati nel precedente punto 2.1. avendo cura di:

effettuare più analisi dei prodotti con metodi analitici Elisa (per effettuare una prima valutazione) o meglio HPLC considerando che

- il dato è valido se il campionamento è corretto;
- nel tempo intercorso dal prelievo all’analisi il campione deve essere mantenuto refrigerato a meno di 6 °C o meglio surgelato;

Nel caso sia accertata la presenza di aflatossine, o nel caso di un numero elevato di positività nell’area in condizioni di coltivazione e conservazione simili, occorre:

- a. scartare le partite di granella con visibili alterazioni scure della granella, indicativamente superiori al 1% dei chicchi (oltre il 90% delle tossine prodotte da *Aspergillus* si concentrano nei chicchi così alterati);
- b. valutare con attenzione le partite con percentuali di rotture elevate;
- c. eseguire vagliatura e spazzolatura della granella (in questo modo si allontanano le parti che contengono la quasi totalità della AFB₁);
- d. scegliere per i capi più sensibili le partite ottenute da mais raccolti tardivamente (es. settembre o ottobre) piuttosto che precocemente (es. agosto);
- e. assicurarsi dell’umidità del prodotto. Deve essere inferiore al 14 % in modo omogeneo.
- f. assicurarsi della temperatura della partita. Deve essere inferiore a 15 °C;
- g. assicurarsi che nel luogo di essiccazione (silo e capannone) non si formino localmente punti ad elevata umidità per stillicidio, vicinanza ad aperture;
- h. evitare di somministrare ai capi sensibili granella conservata in capannoni nella prossimità delle pareti laterali o dove può formarsi della condensa;
- i. in caso di temperature elevate in ambienti di conservazione non idonei distribuire acido propionico o propionato soprattutto negli strati marginali della massa;
- j. trattare contro gli insetti con prodotti specifici (es. p.a. Dichlorvos);
- k. controllare con attenzione lo stato di pulizia dei locali e dei silos in cui vengono stoccate le materie prime utilizzate nella razione. Eseguire una pulizia accurata e se necessario effettuare delle fumigazioni degli ambienti e dei silos

3. Interventi immediati sulla razione alimentare: se il latte supera i 50 ppt di AFM₁, togliere la farina di mais dalla razione, facendosi consigliare da un esperto in alimentazione su come sostituirla (riformulare la razione e non sostituire semplicemente il mais con un'altra materia prima; fare attenzione a non impiegare materie prime non ammesse ad es. nella produzione di prodotti come il Parmigiano Reggiano ed il Grana Padano).

Dopo 2-3 giorni, ricontrollare l'AFM₁ nel latte. Se il livello è sceso a valori di sicurezza, il problema è al momento risolto. Se il livello non è sceso a sufficienza, bisogna controllare gli altri componenti la razione (concentrati, silomais ed eventualmente i fieni).

Il reinserimento della farina di mais nella razione deve essere fatto solamente conoscendo la qualità del prodotto (contenuto in AFB₁).

4. Impiego di sequestranti: può essere opportuno utilizzare dei sequestranti miscelandoli con il prodotto (es. farina di mais) contaminato. La miscelazione deve essere molto accurata perché l'efficacia dei sequestranti è direttamente collegata alla possibilità di contatto tossina-sequestrante. Chiedere ai fornitori garanzie sull'efficacia, che deve risultare da prove condotte *in vivo* su vacche da latte. L'impiego di questi prodotti è indicato soprattutto quando il livello di AFM₁ nel latte non è troppo oltre i 50 ppt; diversamente, agire come al punto precedente.

L'aggiunta di sequestranti nel *carro* non è efficace.

5. Trattamento del latte contaminato: il latte bloccato all'azienda a seguito di positività della botte non è da considerarsi rifiuto speciale e come tale può essere smaltito in concimaia.

COME FRONTEGGIARE IL PROBLEMA DELLE AFLATOSSINE NEL LATTE

LINEE GUIDA OPERATIVE PER RIDURRE IL RISCHIO DI CONTAMINAZIONE DA AFLATOSSINE

Comitato Scientifico AIA

Gruppo di lavoro: Reyneri A.¹ (*Coordinatore*), Visconti A.², Avantaggiato G.², Blandino M.¹

Con la prima nota tecnica sono stati indicati gli interventi nell'immediato per la risoluzione dei problemi legati alla presenza di aflatoSSine nel latte, causate soprattutto dalle particolari condizioni dell'anno 2003.

La presente nota da indicazioni al fine di prevenire il rischio della contaminazione da aflatoSSine in allevamento per il futuro.

Il mais prodotto nell'annata 2003, a causa del particolare andamento caldo e siccitoso nell'estate, ha frequentemente presentato un contenuto rilevabile di aflatoSSine. L'andamento climatico dell'annata ha confermato che il rischio di contaminazione da aflatoSSine in pre-raccolta è basso per il mais prodotto in stagioni piovose e alto per quello ottenuto nelle stagioni secche.

La situazione che si è venuta a creare rende quanto mai necessaria la riconsiderazione di tutti gli interventi che in un futuro possono prevenire la contaminazione da aflatoSSine. Con quanto di seguito descritto si intende suggerire una serie di interventi operativi per attuare una azione di prevenzione negli insilati e nella granella di mais. Si vuole dare un significativo contributo al possibile sviluppo di un sistema integrato del tipo HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) basato sull'osservanza dei principi generali delle buone pratiche agricole e di produzione (FAO, 2001; Scholten et al. 2002; Avantaggiato e Visconti, 2003).

Si deve ricordare innanzitutto che la proliferazione sia delle muffe "di campo", sia "di magazzino" parte dal campo e può proseguire per entrambe se si mantengono condizioni per la proliferazione, durante una non corretta conservazione. Conseguentemente la prevenzione deve partire dalla coltivazione, proseguire nella conservazione e concludersi nelle lavorazioni senza interruzioni di attenzione.

1. Trinciato integrale e pastone di granella

¹ Univ. TO

² Ist. Micotossine CNR BA

Per il trinciato integrale di mais occorre porre attenzione a partire dalla fase di coltivazione (tabella 1), alla fase di insilamento e quindi nel corso dell'utilizzazione del silo (tabella 2). Nelle tabelle citate sono riassunte le agrotecniche errate e quelle considerate corrette.

1.1 Prevenzione in campo

Per la fase di coltivazione si considera di rilevante importanza l'epoca di raccolta, che non deve cadere in un periodo con elevate temperature, e l'umidità del trinciato al momento dell'insilamento; infatti, questa non deve essere troppo ridotta così da impedire un adeguato compattamento della massa e il conseguente aumento dei rischi di alterazioni aerobiche.

Tabella 1. Mais da trinciato integrale: confronto tra agrotecniche ad alto e a basso rischio per la prevenzione delle contaminazioni da aflatossine

	Agrotecnica ad alto rischio	Agrotecnica a basso rischio
1	Scelta di epoche di semina e ibridi con cicli colturali tali da condurre a raccolte in periodi molto caldi	Scelta di epoche di semina e ibridi con cicli colturali tali da condurre a raccolte al termine dell'estate o inizio autunno
2	Diserbo assente o poco efficace	Diserbo accurato
3	Concimazione: - carente per K ₂ O ed N (< 100 kg/ha) - eccessiva per N (> 500 kg/ha da fertilizzanti organici e minerali)	Concimazione - equilibrata tra N, P ₂ O ₅ , K ₂ O - dosi N 280-320 kg/ha
4	Nessun controllo sulla piralide	Trattamento contro la piralide con insetticidi
5	Irrigazione - assente o insufficiente (< 0.7 Etc) - precocemente interrotta	Irrigazione - corretta (0.9-1.1 Etc) - fino alla lattea avanzata
6	Raccolta Trinciatura ritardata oltre il 38% di s.s. Trinciatura lunga e irregolare	Raccolta Trinciatura tempestiva al 30-32% di s.s. soprattutto per insilati estivi. Trinciatura corta 2-3 cm e regolare

1.2 Prevenzione durante l'insilamento e l'utilizzazione del silo

Per la riduzione dei rischi di contaminazione da aflatossine durante la formazione dell'insilato e la sua utilizzazione non si devono porre particolari attenzioni, se non applicare scrupolosamente tutte quelle pratiche che consentono di compattare e chiudere efficacemente l'insilato per attivare rapidamente e compiutamente la fermentazione lattica.

È consigliabile l'utilizzo eventuale di acido propionico e/o i propionati, che si sono dimostrati gli additivi più sicuri ed efficaci nel contrastare lo sviluppo fungino e la formazione di micotossine.

Tabella 2. Mais da trinciato integrale: confronto tra tecniche di insilamento e gestione del silo ad alto e a basso rischio per la prevenzione delle contaminazioni da aflatossine

	Agrotecnica ad alto rischio	Agrotecnica a basso rischio
1	Silo a cumuli con fianchi di pendenza	Silo a trincea

	maggiore a 25-30°. Silo con fronte largo Pavimento del silo piatto	Silo con fronte stretto compatibilmente con l'uso delle macchine Pavimento del silo con pendenza del 2% verso l'apertura
2	Riempimento lento in strati orizzontali compattamento modesto e non uniforme, chiusura del silo approssimativa, nessun carico di appesantimento.	Riempimento rapido in strati inclinati, elevato e uniforme compattamento, chiusura del silo con fogli addossati alle pareti e quindi rovesciati verso il colmo e ricoperti con altro foglio. Distribuire propionato (0.03-0.04 %) nella porzione superiore del cumulo. Carico di appesantimento uniforme di almeno 50 kg/m ²
3	Profondità di prelievo esigua. Sollevamento profondo del foglio superiore durante l'utilizzo	Impiego di macchine desilatrici. Prelievi giornalieri profondi almeno 10 cm in inverno e 20 cm in estate Sollevamento del foglio superiore della profondità necessario al desilamento del giorno
4	Nessuna rimozione delle parti alterate	Rimozione attenta di tutte le parti che presentano ammuffimenti e alterazioni aerobiche visibili.

Per il pastone di granella occorre seguire le indicazioni riportate per il trinciato integrale ponendo ancora maggior cura sulle modalità di insilamento e desilamento. In particolare la profondità del fronte di avanzamento deve essere di 30 cm in inverno e 60-80 cm in estate; ciò comporta la necessità di dimensionare con grande attenzione il silo in funzione dei prelievi prevedibili.

2. Mais da granella

2.1. Prevenzione in campo

Per la minore umidità alla raccolta e per le modalità di conservazione, la granella di mais è più esposta alla contaminazione da *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*; per tale motivo è necessario mettere in pratica una serie di interventi in grado di ridurre la probabilità di incorrere in contaminazioni apprezzabili.

Poiché l'infezione da *A. flavus* e del mais ha luogo principalmente in campo, la prevenzione della contaminazione fungina in pre-raccolta rappresenta la migliore strategia per ridurre i rischi di contaminazione da aflatossine e garantire un prodotto alimentare sicuro.

Fermo restando che la resistenza della pianta ospite rappresenta la migliore strategia in pre-raccolta per prevenire l'attecchimento di funghi e l'accumulo di micotossine, le ricerche fatte finora per selezionare o sviluppare varietà di mais naturalmente resistenti alla colonizzazione da parte di funghi aflatossinogeni e all'accumulo di aflatossine hanno portato, salvo rare eccezioni, a risultati poco soddisfacenti.

Per quanto riguarda la fase di coltivazione gli aspetti principali dell'agrotecnica di sicura attuabilità sono riassunti nella tabella 3.

Un cenno particolare meritano l'epoca e le modalità di raccolta. La formazione di aflatossine è favorita in campo da temperature elevate (massima giornaliera > 30 °C) tra la maturazione fisiologica e quella di raccolta e da granella con umidità contenuta. Per questo motivo una sensibile riduzione dei rischi si può ottenere raccogliendo la granella con umidità prossime al 24 % (Tabella 4).

Si deve quindi evitare tassativamente la pratica, assai diffusa in alcuni areali, di lasciare in campo la coltura fino al tardo autunno, al fine di ottenere un'ulteriore riduzione del valore di umidità.

Sebbene sia riportato che il danno provocato alle colture dagli attacchi di insetti fitofagi non rappresenta un requisito essenziale per la contaminazione da aflatossine, è anche noto che l'incidenza di infezione da parte di *A. flavus* e *A. parasiticus* è significativamente più alta nelle cariossidi danneggiate rispetto a quelle sane. Gli insetti, oltre a danneggiare i tegumenti esterni delle cariossidi e facilitare l'ingresso e la colonizzazione da parte di funghi micotossigeni, possono agire da vettori delle spore fungine o creare punti critici nella massa delle derrate, ad alto contenuto di umidità, favorevoli alla crescita dei funghi e alla produzione di tossine.

In prospettiva è ipotizzabile l'adozione di mezzi di lotta biologica mediante preinfezione delle colture con isolati fungini non tossigeni bio-competitivi. Diversi microrganismi sono stati proposti quali agenti di bio-controllo in pre-raccolta della contaminazione da *A. flavus* e aflatossine; isolati non aflatossigeni della stessa specie possono essere ottimi agenti bio-competitivi che ben si adattano alle condizioni ambientali tipiche delle specie tossigene.

Tabella 3. Mais da granella: confronto tra agrotecniche ad alto e a basso rischio per la prevenzione delle contaminazioni da aflatossine

	Agrotecnica ad alto rischio	Agrotecnica a basso rischio
1	Scelta di epoche di semina e ibridi con cicli colturali tali da condurre a raccolte in periodi molto caldi	Scelta di epoche di semina e ibridi con cicli colturali tali da condurre a raccolte al termine dell'estate o inizio autunno
2	Densità di semina elevate (8 piante/m ² per ibridi a ciclo pieno)	Densità di semina equilibrate (6-6,5 piante/m ² per ibridi a ciclo pieno)
3	Minima lavorazione o semina su sodo	Lavorazioni che assicurino l'interramento dei residui
4	Diserbo assente o poco efficace	Diserbo accurato
5	Concimazione: - carente per K ₂ O ed N (< 100 kg/ha) - eccessiva per N (> 300 kg/ha) - alti apporti organici	Concimazione - equilibrata tra N, P ₂ O ₅ , K ₂ O - dosi N 180-240 kg/ha - apporti N frazionati

6	Nessun controllo sulla piralide e sulla sesamia	Trattamento contro la piralide e la sesamia con insetticidi
7	Irrigazione - assente - insufficiente (< 0.7 ETc) - precocemente interrotta	Irrigazione - corretta (0.9-1.1 ETc) - fino alla lattea avanzata
8	Raccolta Essiccazione prolungata in campo della granella Elevate rotture alla trebbiatura	Raccolta Tempestiva soprattutto per maturazioni estive Ridotte rotture alla trebbiatura
9	Trasporto della granella umida non tempestivo Impiego di macchinari non puliti	Trasporto ed essiccazione tempestivi Pulitura attenta della mietitrebbia e dei carri

Tabella 4. Condizioni ambientali e colturali, umidità della granella e rischio di infezioni in campo da *Aspergillus flavus*.

	Basso rischio	Medio rischio	Alto rischio
T massima (°C)	< 25	25-30	> 30
Umidità granella alla raccolta (%)	> 24	24-20	< 20
Stress idrico successivo alla maturazione cerosa	assente		presente

2.2 Prevenzione nel post raccolta

E' risaputo che in questa fase si possono creare condizioni favorevoli ai funghi tossigeni di magazzino; il contenuto di aflatossine può quindi crescere anche esponenzialmente se non vengono seguite correttamente le operazioni di essiccazione, pulitura e stoccaggio.

Sia in condizioni ordinarie sia, a maggior ragione, nel caso di accertata presenza di aflatossine in campo (o conoscenza di condizioni predisponenti) occorre:

- a. Limitare ad un massimo di 24 h la permanenza nella granella umida in cumulo quando questa presenta una temperatura superiore a 26-28 °C e ad un massimo di 48 h quando questa presenta temperature più basse;
- b. Trattare con propionato di sodio (0,3-0,4 % in peso rispetto alla massa di granella in cumulo) nel caso di permanenza in cumulo superiore e con temperature della massa maggiori a 26-28 °C. L'impiego di acido propionico o di miscele di questo con acido acetico consente una buona miscelazione ma successive difficoltà di manipolazione e problemi di corrosione;

- c. Va inoltre bandita la pratica di conservare il mais in pannocchie non essiccate all'interno di cassoni di rete (cassoni ungheresi), per effettuarne in seguito la sgranatura;
- d. Essiccare con attrezzature aggiornate in grado di registrare con attenzione i valori di umidità finale e portare la massa a valori molto omogenei di umidità; essiccazione della granella al $\leq 14\%$ di umidità per stoccaggio a breve termine (≤ 3 mesi) e al $\leq 12\%$ per stoccaggio a lungo termine (≤ 3 anni); se la temperatura della granella è mantenuta sotto i 12°C anche un'umidità del 14% può essere considerata sufficiente sicura per il lungo termine;
- e. Durante l'essiccazione è necessario ridurre al minimo i danni meccanici alle cariossidi, con variazioni progressive della temperatura di trattamento della granella e prevedendo un'attenuazione delle altezze di caduta ed una riduzione delle movimentazioni della granella tramite elevatori o coclee metalliche;
- f. Pulire la granella prima e dopo l'essiccazione regolando i setacci e la ventilazione al fine di allontanare con decisione tutte le impurità, le polveri, i frammenti e le rotture e la parti estranee; esistono processi meccanici di vagliatura a basso costo coi quali si possono abbattere in alcune tipologie di prodotti anche di oltre il 200% la tossina presente (Pavesi et al., 2004);
- g. Raffreddare tempestivamente mediante refrigeratore per portare la massa a temperature $< 20^{\circ}\text{C}$. Successivamente ai primi freddi ventilare per effettuare la "refrigerazione conservativa" e portare la massa a $5-8^{\circ}\text{C}$;
- h. Conservare preferibilmente nei silos a torre per la migliore efficienza della ventilazione e per la maggiore omogeneità della massa;
- i. Nei silos a torre prelevare tempestivamente la "carota" centrale ed effettuare su questa una successiva pulitura prima del ricaricamento;
- j. Ripetere la pulitura della granella durante le movimentazioni della stessa;
- k. Pulire a fondo i silos e i capannoni di stoccaggio a fine stagione asportando meccanicamente e in modo accurato i residui e tutto ciò che aderisce alle pareti e ai pavimenti;
- l. Trattare preventivamente con insetticidi specifici, fumiganti, esche e rodenticidi.

L'applicazione dei punti elencati non può prescindere da un attento e frequente monitoraggio. In particolare occorre: garantire il facile accesso ai sistemi di monitoraggio di umidità e temperatura; misurare il livello di contaminazione da micotossine delle derrate prima dello stoccaggio e in seguito prelevare con regolarità campioni di derrate immagazzinate per valutare la possibile evoluzione della contaminazione da micotossine.

Gli insetticidi (quali dichlorvos, deltametrin, fenitrothion, methyl phoxin, pyrifos methyl, e pirimiphos methyl, ecc.) dovrebbero essere vaporizzati nei punti di fuga dei sili o sulla maggior

parte delle superfici di contatto con le granaglie. L'uso di fumiganti (bromuro di metile, fosfina, tetracloruro di carbonio, bromuro di etilene, ecc.) è raccomandato in ambienti chiusi e dove è possibile un'omogenea diffusione del gas o un suo rapido allontanamento. L'efficacia della fumigazione è influenzata da diversi fattori quali temperatura, umidità, durata, formulazione del fumigante, dosaggio e procedura di applicazione, struttura degli ambienti di immagazzinamento e loro aerazione.

Per prevenire la contaminazione da funghi e/o batteri delle granaglie possono essere impiegati diversi antimicrobici quali acidi organici (sorbati, propionati, benzoati), antibiotici, erbe, spezie, oli essenziali, o antiossidanti. Tra questi i propinati presentano più sicura efficacia. Alcuni prodotti antimicrobici in commercio sono il Propcorn (99% di acido propionico di qualità alimentare) e il Myco Curb (liquido, non corrosivo, non tossico e non volatile, contenente una miscela di acidi organici quali, acido propionico, acido acetico, acido sorbico, ecc). Il trattamento con questi antimicrobici oltre a prevenire il bio-deterioramento delle granaglie, la perdita di peso secco o di valore nutritivo, aggiunge ulteriore valore energetico ai cereali trattati e ne garantisce la sicurezza d'uso per gli animali o per gli operatori del settore.

Si ricorda che l'impiego di agenti antifungini a bassa tossicità deve essere considerato come un ulteriore intervento preventivo e mai come un sostituto di tutti gli altri accorgimenti quali l'umidità, la pulizia del prodotto e dei locali.

A tal proposito va inoltre ribadito che la produzione di aflatossine è inibita totalmente alle temperature di refrigerazione e che lo stoccaggio in atmosfere modificate, a basso tenore di ossigeno e alto tenore di anidride carbonica, è in grado di prevenire la crescita fungina anche in mais molto umido.

Infine, l'irraggiamento con raggi gamma delle granaglie prima dello stoccaggio, pur risultando di difficile applicazione su larga scala e alquanto dispendioso, può rappresentare in situazioni di emergenza un'utile strategia per contenere la contaminazione da *A. flavus* e *A. parasiticus*.

2.3 Prevenzione prima delle lavorazioni

Nel caso dei molini per mangimi e per lo stoccaggio a lungo termine di grandi quantitativi di granaglie è necessario affinare i criteri di valutazione, respingendo o declassando il mais contenente livelli inaccettabili di umidità e/o aflatossine. Onde evitare il riscaldamento delle granaglie, è necessario ridurre i tempi di attesa delle derrate sugli autocarri prima delle analisi, o i tempi di scaricamento, e immediatamente dopo lo scaricamento procedere con l'immagazzinamento in locali adeguati, e assicurandosi che la granaglia abbia delle condizioni di temperatura e umidità prima elencate e compatibili con la conservazione.

Su scala industriale è, inoltre, possibile la messa in atto di programmi di monitoraggio efficaci per una rapida individuazione di partite di mais presumibilmente contaminate, da sottoporre ad ulteriore analisi chimica con metodi validati. A questo scopo, un metodo rapido molto usato in USA è il “bright greenish yellow fluorescence” (BGYF) o “black light”, consistente nell’esaminare con luce UV (365 nm) in camera oscura un campione di mais rappresentativo di un intero lotto (4.5 Kg). Il test, oltre ad essere molto veloce, è affidabile e di norma non produce falsi negativi, per cui solo i campioni che emettono luce fluorescente possono considerarsi verosimilmente positivi e vanno ulteriormente confermati per HPLC.

In breve questa fase veramente cruciale per la produzione di aflatossine deve essere affrontata scartando a priori:

- vecchi impianti di essiccazione con insicuro controllo del processo;
- granella conservata in ambienti non idonei;
- granella prodotta in ambienti, regioni o stati che incontrano alla raccolta le condizioni a rischio prima ricordate.

In ultimo, le industrie di trasformazione che fanno uso di mais (ad es. mangimifici), per garantire prodotti alimentari sicuri e instaurare rapporti duraturi con i fornitori, devono adottare le azioni preventive di seguito elencate:

- ❖ definire un capitolato d’acquisto delle materie prime e inserire nelle specifiche i limiti per le micotossine in conformità ai limiti di legge, se esistenti, o, in caso contrario, a valori di riferimento internazionali;
- ❖ selezionare in maniera oculata i fornitori e conoscerne le fonti di approvvigionamento, le linee di produzione, le condizioni di stoccaggio e i piani di controllo;
- ❖ in funzione del livello di conoscenza del fornitore e dell’origine delle materie prime, attuare sistematicamente controlli analitici delle materie prime in entrata, e dei prodotti finiti, facendo ricorso a piani di campionamento adeguati (per ottenere campioni rappresentativi della partita da controllare) e a metodi analitici robusti e/o ufficiali.

Data la notevole complessità degli interventi suggeriti, in tabella 5 sono riassunti i principali punti critici (pc) e le possibili misure di controllo da adottare per prevenire o ridurre la contaminazione da aflatossine della granella di mais.

Oltre al preminente peso che ha il mais nel problema delle aflatossine nel latte, non deve essere sottovalutato il rischio di contaminazione da aflatossine che può derivare da altre materie prime

utilizzate nella alimentazione della vacca da latte. A tal proposito è bene ricordare che le aflatossine possono svilupparsi da muffe presenti anche in materie prime quali:

- semi di cotone;
- panelli e farine di semi oleosi;
- farina di estrazione di soia;
- polpe.

Le materie prime a maggiore rischio di presenza di aflatossine sono quelle provenienti dai paesi tropicali.

Infine, è importante ricordare che, anche per le materie prime differenti dal mais e sottoprodotti, devono essere adottati tutti gli accorgimenti volti a ridurre lo sviluppo di muffe durante lo stoccaggio. A tale proposito occorre porre attenzione anche al fieno-silo in rotoballe fasciate.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

FAO (2001). Manual on the application of HACCP system in mycotoxin prevention and control.

FAO, Food and Nutrition paper n. 73.

Alma A., Blandino M., Lessio F. 2003. Micotossine addio se la piralide è sconfitta. *Informatore Zootecnico*, 14: 56-59.

Avantaggiato G. e Visconti A.; 2003. Misure di controllo della contaminazione da micotossine e strategie di detossificazione. *Tecnica Molitoria*, Ottobre 2003, pag. 1025-1038.

Blandino M., Lazzari A., Reyneri A., Vanara. 2003. Micotossine? Dipende dall'epoca di semina. *L'informatore zootecnico*, 8: 70-75.

Borreani G., Tabacco E., Cavallarin L.; 2003. Contaminazione da micotossine negli insilati di mais. *L'informatore Agrario* 31, pag. 49-55.

Bottalico A.; 1997. Muffe e micotossine delle granaglie. In: Atti del VI Simposio "La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti", Piacenza 24-26 settembre, Chiriotti Editori, Pinerolo, 201-227.

CAST, Council for Agricultural Science and Technology; 1989. Mycotoxins: Economic and Health Risks. Report No.116 (November 1989).

Chulze S.N., Ramirez M.L., Farnochi M.C., Pascale M., Visconti A, March G.; 1996. Fusarium and fumonisin occurrence in Argentinian corn at different ear maturity stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2797-2801.

- Pavesi M., Palma A., Savoini G.; 2004. Abbattimento del tenore in Aflatossina B1 nella granella di mais: sperimentazione di un processo meccanico a basso costo. *Il Nuovo Progresso Veterinario*, (in corso di stampa).
- Reyneri A., Cavallero A., Acutis M., Berardo P., Ferrero C., Minelli L., Turletti A., Spanna F., Alma A., Matta, A., Bergese S., Lazzari A., Bersani L.; 2001. Contenere le micotossine nella granella di mais. *L'Informatore Agrario*, 47: 35-39.
- Reyneri A., Blandino M., Ferrero C., Bersani L.; 2002. Effetto delle operazioni di post-raccolta sulla contaminazione da micotossine nel mais. *Tecnica Molitoria*, 10: 977-994.
- Reyneri A., Alma A., Blandino M., Matta A., Vanara F.; 2003. Prevenire la presenza di micotossine di mais per gli allevamenti suini. *Rivista di suinicoltura*, 4:197-202.
- Reyneri A., Bersani L., Vanara F.; 2003. Micotossine, questione di scelta varietale. *L'informatore zootecnico*, 9:84-89.
- Reyneri A., Blandino M., Vanara F., Matta A., Lazzari A., Alma A., Lessio F., Ferrero C., Minelli L., Cavallero A., Turletti A., Spanna F., Bersani L.; 2004. Impiego di tecniche agronomiche per contenere la contaminazione da micotossine nella granella di mais. *L'Informatore Agrario*. In corso di stampa.
- Sholten O.E., Ruckenbauer P., Visconti A., van Osenbruggen W.A., den Nijs A.P.M.; 2002. Food safety of cereals: A chain-wide approach to reduce *Fusarium* mycotoxins. European Commission, Brussels, FAIR-CT98-4094; 84 pp.

TABELLA 5. PRINCIPALI PUNTI CRITICI (PC) E POSSIBILI MISURE DI CONTROLLO DA ADOTTARE PER PREVENIRE O RIDURRE LA CONTAMINAZIONE DA AFLATOSSINE DELLA GRANELLA DI MAIS PER ALIMENTAZIONE ANIMALE

	FATTORI DI RISCHIO	MISURE PREVENTIVE/CORRETTIVE
<p><u>Punti critici 1-2:</u> <i>In pre-raccolta, durante la crescita in campo</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - condizioni di stress (soprattutto nel periodo finale di maturazione del mais) - siccità - temperature elevate ($\geq 25^{\circ}\text{C}$) - stress idrico dovuto ad assenza di irrigazione, irrigazione inferiore a 0.7 ETc o precocemente interrotta - eccessiva fertilizzazione azotata (>300 kg/ha), concimazione carente per K_2O ed N (<100 kg/ha), alti apporti organici - elevata densità di semina - assenza o scarsa efficacia del diserbo - danni da fitofagi (insetti, uccelli, roditori) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ scelta di epoche di semina adatte in modo da avere antesi quando la temperatura dell'aria non è eccessivamente alta e per raccogliere a fine estate o inizio autunno ○ preparazione adeguata del letto di semina e allontanamento delle sorgenti di inoculo fungino ○ reintroduzione di rotazioni colturali appropriate (tipo mais/soia) ○ irrigazioni corrette (0.9-1.1 ETc) e protratte fino alla maturazione latte avanzata ○ concimazioni equilibrate tra N, P_2O_5, K_2O; dosi di N tra 180-240 kg/ha; apporti azotati frazionati ○ diserbo accurato ○ riduzione degli attacchi da insetti con insetticidi o metodi di lotta biologica ○ scelta di ibridi di mais resistenti all'accumulo di aflatossine ○ strategie di lotta biologica e preinfezione delle colture con isolati fungini bio-competitivi, non tossigeni
<p><u>Punto critico 3:</u> <i>Alla raccolta</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - umidità della granella < 20% - aumento dei danni meccanici dovuti alle operazioni di raccolta 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Raccolta tempestiva soprattutto per maturazioni estive, possibilmente con umidità della granella > 24 % ○ uso di corrette modalità di raccolta per limitare i danni meccanici

<p><u>Punto critico 4:</u> <i>Stoccaggio granella umida prima dell'essiccazione</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - conservazione della granella umida per più di 24 ore con umidità >16% 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Limitare ad un massimo di 24 h la permanenza nella granella umida in cumulo quando questa presenta una temperatura superiore a 26-28 °C e ad un massimo di 48 h quando questa presenta temperature più basse
<p><u>Punto critico 5:</u> <i>Conservazione a breve o lungo termine</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - conservazione di granella con umidità >14% - uso di essiccatoi non idonei - mancata pulitura delle cariossidi - conservazione a temperature >20°C e assenza di refrigerazione - stoccaggio in ambienti non idonei o infestati da fitofagi (insetti, roditori, ecc.) - non osservanza delle buone pratiche di conservazione e di igiene 	<ul style="list-style-type: none"> ○ essiccazione della granella al $\leq 14\%$ di umidità ○ uso di sistemi di essiccazione idonei ○ pulitura delle cariossidi e allontanamento di impurezze, polveri, frammenti, rotture e parti estranee, prima e dopo l'essiccazione ○ refrigerazione della granella dopo l'essiccazione e conservazione a temperature <20°C; successivamente ai primi freddi ventilare per effettuare la "refrigerazione conservativa" e portare la massa a 5-8 °C ○ Nel caso di accertati rischi di sviluppo di ammuffimenti, prevenire la contaminazione da funghi e/o batteri delle granaglie impiegando diversi antimicrobici quali acidi organici antibiotici o antiossidanti ○ monitoraggio continuo di umidità e temperatura dei locali di stoccaggio mediante sistemi idonei e facilmente accessibili ○ rimozione dei residui di precedenti stoccaggi e pulizia accurata, lavaggio e trattamento con insetticidi di tutti gli ambienti destinati a contenere o a venire a contatto con le derrate ○ riduzione delle infestazioni da insetti o roditori mediante insetticidi, fumiganti, esche, rodenticidi ○ monitoraggio del livello di contaminazione da micotossine delle derrate prima e per tutta la durata dello stoccaggio
<p><u>Punto critico 6:</u> <i>...</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - riscaldamento e riumidificazione delle granaglie durante il trasporto o prima dello 	<ul style="list-style-type: none"> ○ valutazione adeguata del contenuto in aflatossine nella granella, rifiuto o declassamento di mais contenente livelli inaccettabili di umidità e/o

<p><i>stoccaggio a lungo termine di grandi quantitativi di granella</i></p>	<p>scaricamento</p> <ul style="list-style-type: none"> - lunghi periodi di attesa sui mezzi di trasporto prima delle analisi o dello scaricamento - conservazione della granella in locali non adeguati dopo lo scaricamento 	<p>aflatossine</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ controllo dell'umidità della granella e della sua temperatura prima dello stivaggio, refrigerazione della granella sotto i 20 °C, qualora lo stoccaggio sia maggiore di 1 mese ○ riduzione dei tempi di attesa e di scaricamento delle derrate sugli automezzi prima delle analisi ○ stoccaggio della granella in locali adeguati dopo lo scaricamento ed osservanza delle buone pratiche di conservazione e di igiene ○ messa in atto di programmi di monitoraggio efficaci per una rapida individuazione di partite di mais presumibilmente contaminate da sottoporre ad ulteriore analisi chimica con metodi validati
<p><u>Punto critico 7:</u></p> <p><i>Industrie di trasformazione (ad es. mangimifici)</i></p>		<ul style="list-style-type: none"> ○ definizione di un capitolato d'acquisto delle materie prime e inserimento nelle specifiche dei limiti per le micotossine in conformità ai limiti di legge, se esistenti, o, in caso contrario, a valori di riferimento internazionali ○ selezione oculata dei fornitori e informativa adeguata su fonti di approvvigionamento, linee di produzione, condizioni di stoccaggio, piani di controllo ○ controlli analitici sistematici delle materie prime in entrata, e dei prodotti finiti, mediante ricorso a piani di campionamento adeguati (per ottenere campioni rappresentativi della partita da controllare) e a metodi analitici robusti e/o ufficiali