



AGRINNOVA

CIBO CONTAMINATO: LE MICOTOSSINE

Maria Lodovica Gullino

Agroinnova, Università degli Studi di Torino

OUTLINE

- **Introduzione**
 - Cosa sono le micotossine
 - Storia (ortodossa e personale)
 - Aree e prodotti a maggior rischio
 - Funghi tossigeni e prodotti contaminati
 - Classi di micotossine
- **Significato biologico e importanza economica**
 - Formazione (origine)
 - Diffusione
 - Persistenza
 - Tossicità
 - Danno economico
- **Interventi**
 - Interventi preventivi
 - Interventi curativi
 - Interventi legislativi e sanitari

MICOTOSSINE E MICOTOSSICOSI

- Nella maggior parte dei casi: metaboliti tossici studiati in laboratorio con scarsa probabilità di essere ritrovati come contaminanti naturali.
- Solo alcune trovate nelle derrate alimentari, e di esse pochissime associate a micotossicosi naturali.
 - aflatossine,
 - zearalenoni,
 - tricoteceni (deossinivalenolo, tossina T-2),
 - ocratossine,
 - ergoline (alcaloidi di *Claviceps*),
 - fumonisine,
 - patulina.

TOSSICITÀ

- Diverse micotossine provocano affezioni sia acute che croniche, note come **micotossicosi**.
- Attività:
 - cancerogena (1: aflatossine, 2B: ocratossine e fumonisine);
 - genotossica (mutagenità e teratogenicità delle aflatossine);
 - immunosoppressiva (i tricoteceni (T-2) e le aflatossine);
 - epatotossica (aflatossine);
 - nefrotossica (ocratossina);
 - neurotossica (fumonisine);
 - dermatossica (tricoteceni (T-2));
 - emetica (tricoteceni (DON));
 - ormonale (zearalenoni)
 - allucinogena e convulsiva (ergoline).

TOSSICITÀ

- Tali intossicazioni alimentari sono particolarmente ricorrenti negli animali in produzione zootecnica, ed è dalla **medicina veterinaria** che ci perviene la maggior parte delle informazioni riguardanti la problematica micotossicologica.
- Anche se di difficile valutazione, esiste un reale rischio anche per **l'uomo**.
- Sono state finora descritte almeno 30 micotossicosi degli animali e dell'uomo.
- Le micotossine potrebbero essere coinvolte in altre sintomatologie di ricorrenti tossicosi alimentari ad eziologia complessa.

ALLEVAMENTI

- Sono state finora descritte almeno 30 micotossicosi degli animali e dell'uomo.
- Negli **allevamenti zootecnici** sono particolarmente diffuse le **micotossicosi sub-acute**, connesse con la presenza di **micro-contaminazioni** nei mangimi.
- Le micotossicosi sub-acute hanno un **peso economico particolarmente rilevante** poiché esse causano un **generalizzato cattivo stato di salute degli animali**, che molte volte può anche passare inosservato, ma porta a una riduzione delle produzioni.
- Per le conoscenze acquisite, è sempre più raro incontrare derrate con elevate concentrazioni di micotossine in grado di causare micotossicosi mortali.



AGRINNOVA

UN PO' DI STORIA

STORIA ORTODOSSA

- Nel XIX secolo:
Epidemie tra cavalli o maiali alimentati con foraggi o mangimi deteriorati. Scarsa attenzione alle possibili cause.
- Nel 1962 in Inghilterra:
clamorosa moria di 100.000 tacchini alimentati con arachidi infette da *Aspergillus flavus*. La tossicità di semi e cariossidi, mal conservati e invasi da *A. flavus*, era dovuta a diversi metaboliti secondari, aflatossine.



STORIA PERSONALE

- Quando ero tesista all'Orto Botanico – nel secolo scorso – arrivò un signore disperato. Il suo cane (35 kg di peso) era morto dopo avere consumato pan carré ammuffito!



STORIA ANCORA PIU' PERSONALE

- Quando avevo 14 anni mi sono comprata il motorino – sempre nel secolo scorso – con il ricavato della vendita delle mele marce per produrre sidro. Più tardi...



MICOTOSSINE, UN PROBLEMA DEGLI ALTRI?

- Solo nei paesi in via di sviluppo gli alimenti sono contaminati da micotossine? NO
- Sono nei climi caldi e umidi vengono prodotte le micotossine? NO
- Le micotossine sono sempre collegate con scarsa igiene? NO



12/01/2019

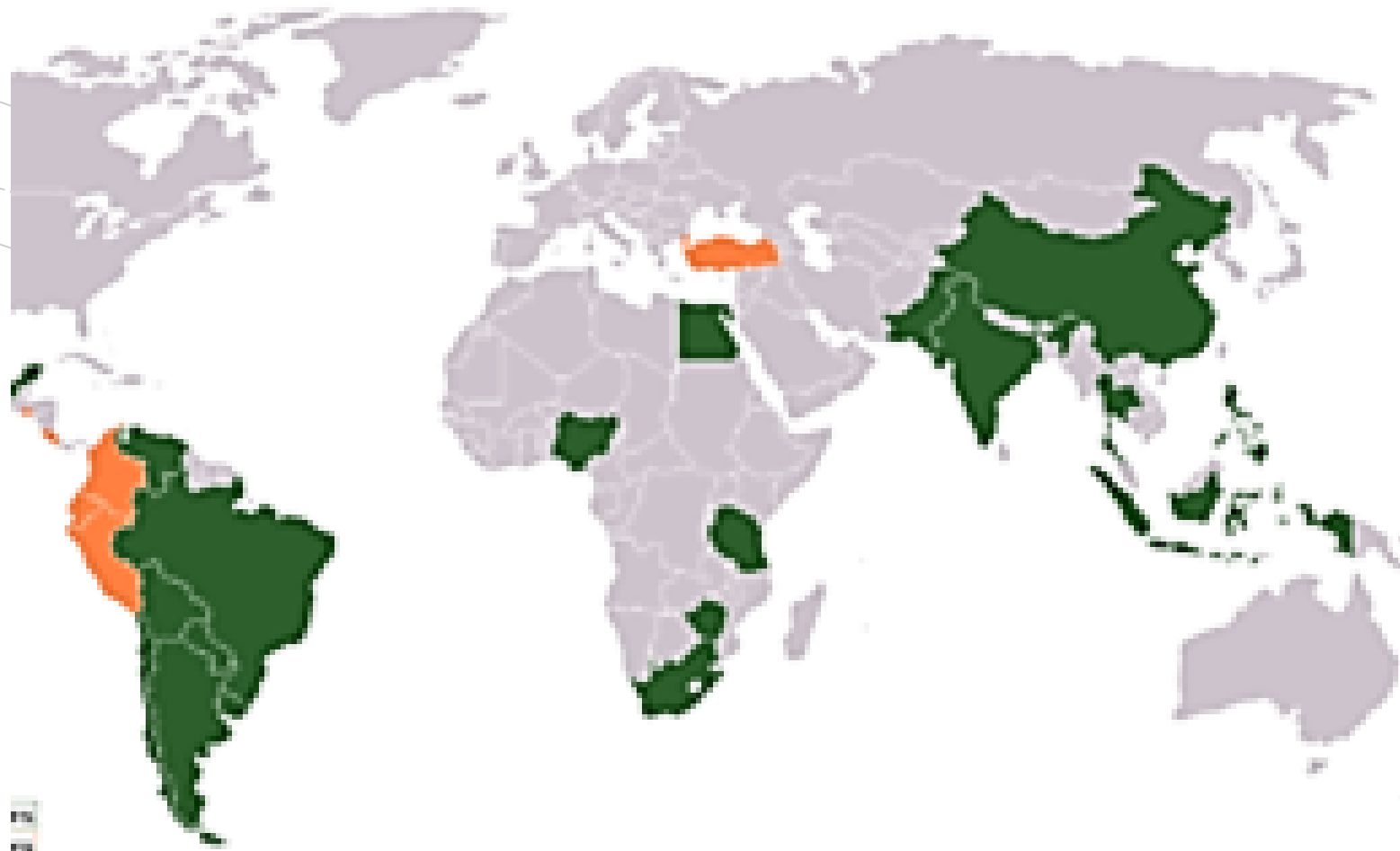
AGRI
NNOVA

MICOTOSSINE, UN PROBLEMA DI TUTTI!

MICOTOSSINE - M.L. GULLINO



**MICOTOSSINE,
UN PROBLEMA
PIÙ GRAVE
PER ALCUNI**



AGRI
NOVA

FUNGHI TOSSIGENI

- Numero di funghi *patogeni* delle derrate alimentari (mangimi e alimenti) relativamente ridotto.
- Ancora più contenuto il numero di quelli anche *tossigeni*.
 - Specie xerofile (alofile): capaci di accrescersi in condizioni di bassa umidità ($a_w \leq 0,75$).
 - Specie psicrofile: capaci di accrescersi in condizioni di bassa temperatura ($T \leq 5^\circ\text{C}$).
 - Sono particolarmente importanti i generi:
Aspergillus, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*.

12/01/2019

AGRI
NOVA

I PRODOTTI PIU' SPESSO CONTAMINATI

MICOTOSSINE - M.L. GULLINO




 AGRINNOVA

FUNGHI TOSSIGENI E PRODOTTI CONTAMINATI

Specie	Micotossina	Coltura o prodotto a rischio
<i>Acremonium loliae</i>	Lolitremina	<i>Lolium</i> spp.
<i>Alternaria alternata</i>	Ac. Tenuazonico Alternarioli Altertossine	Pomodoro, Altre Ortive, Cereali, Oleaginose, Agrumi, Olivo, Mangimi
<i>Chaetomium globosum</i>	Chetomina	Mangimi, Fieni, Paglia
<i>Claviceps papali</i>	Paspalinina	<i>Paspalum</i> spp.
<i>Claviceps purpurea</i>	Acidi Lisergici Clavine	Graminacee cerealicole e foraggere
<i>Diplodia</i> spp.	Diplodiatossina Chetoglobosina	Mais
<i>Dendrodochium toxicum</i>	Verrucarine Roridine	Paglia, Lettiere
<i>Epichloe typhina</i> (<i>Acremonium coenophialum</i>)	Clavine Ergopeptine	<i>Festuca</i> spp.
<i>Myrothecium verrucaria</i>	Verrucarine Roridine	Stoppie, Fieni, Paglia
<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	Fomopsine	<i>Lupinus</i> spp.
<i>Pithomyces chartum</i>	Sporidesmine	Pascoli, Essenze prative
<i>Rhizoctonia leguminicola</i>	Slaframine	<i>Trifolium</i> spp.
<i>Stachybotrys chartarum</i>	Satratossine Verrucarine Roridine	Fieni, Paglia, Lettiere
<i>Trichoderma</i> spp.	Gliotossina Tricodermina	Fieni, Paglia, Mangimi
<i>Trichothecium roseum</i>	Tricotecina	Frutta, Cereali, Foraggio

DIFFUSIONE

Prodotti a maggior rischio di contaminazione

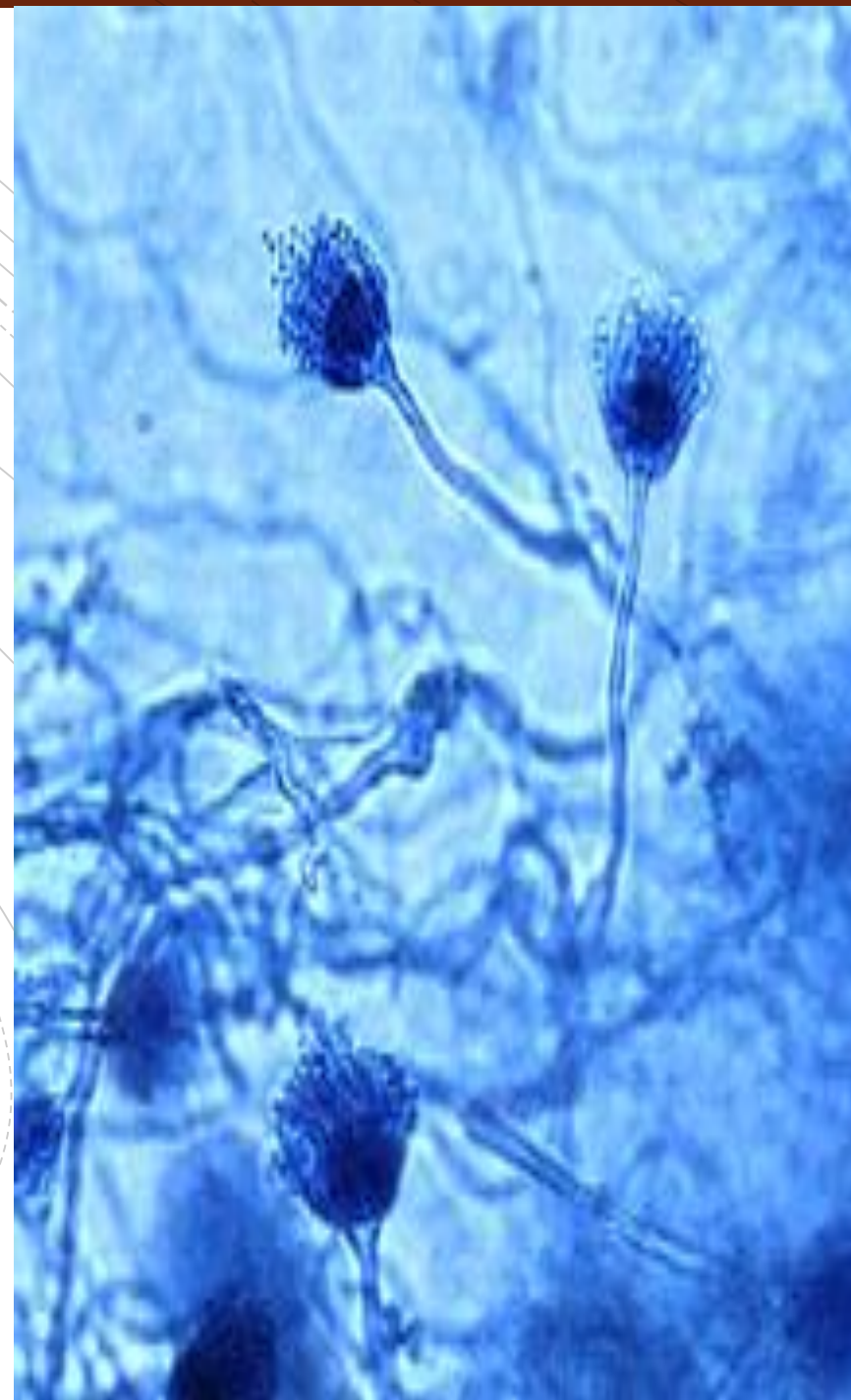
- **mais** e altri **cereali** (riso, sorgo, frumento, orzo)
- **arachidi** e altri **legumi** (fagioli, piselli, fave, soia)
- **semi oleaginosi** e oli derivati (cotone, cocco, lino, girasole)
- prodotti vegetali freschi, essiccati e torrefatti (**fichi, mele, uva, pesche, caffè, cacao**)
- spezie (**peperoncino, pepe**) ed erbe per infusioni
- diversi tipi di **mandorle, noci e pistacchi** soprattutto delle aree sub-tropicali
- radici carnose (**batata, cassava**)
- prodotti fermentati (**birra, vino, sidro, brodi proteici**)
- prodotti animali (**latte alimentare, formaggi, pesci e gamberetti; sangue e altri organi di animali zootecnici**)
- **mangimi** a base di pannelli di arachide, cotone, cocco, o di mais

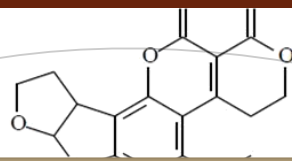
POCHE SPECIE E NON TUTTI I CEPPI

- Una o poche specie dei generi di funghi tossigeni sono produttori di micotossine.
- Non tutti i ceppi di una stessa specie tossigena sono produttori di micotossine o, quanto meno, non con la stessa capacità.
 - *Aspergillus flavus*:
45% dei ceppi produttore di aflatossine di tipo B
 - *A. parasiticus*:
92% dei ceppi produttore di aflatossine di tipo B e G
 - *A. ochraceus*:
17% dei ceppi produttore di OTA
 - *P. verrucosum*:
62% dei ceppi produttore di OTA

ASPERGILLUS

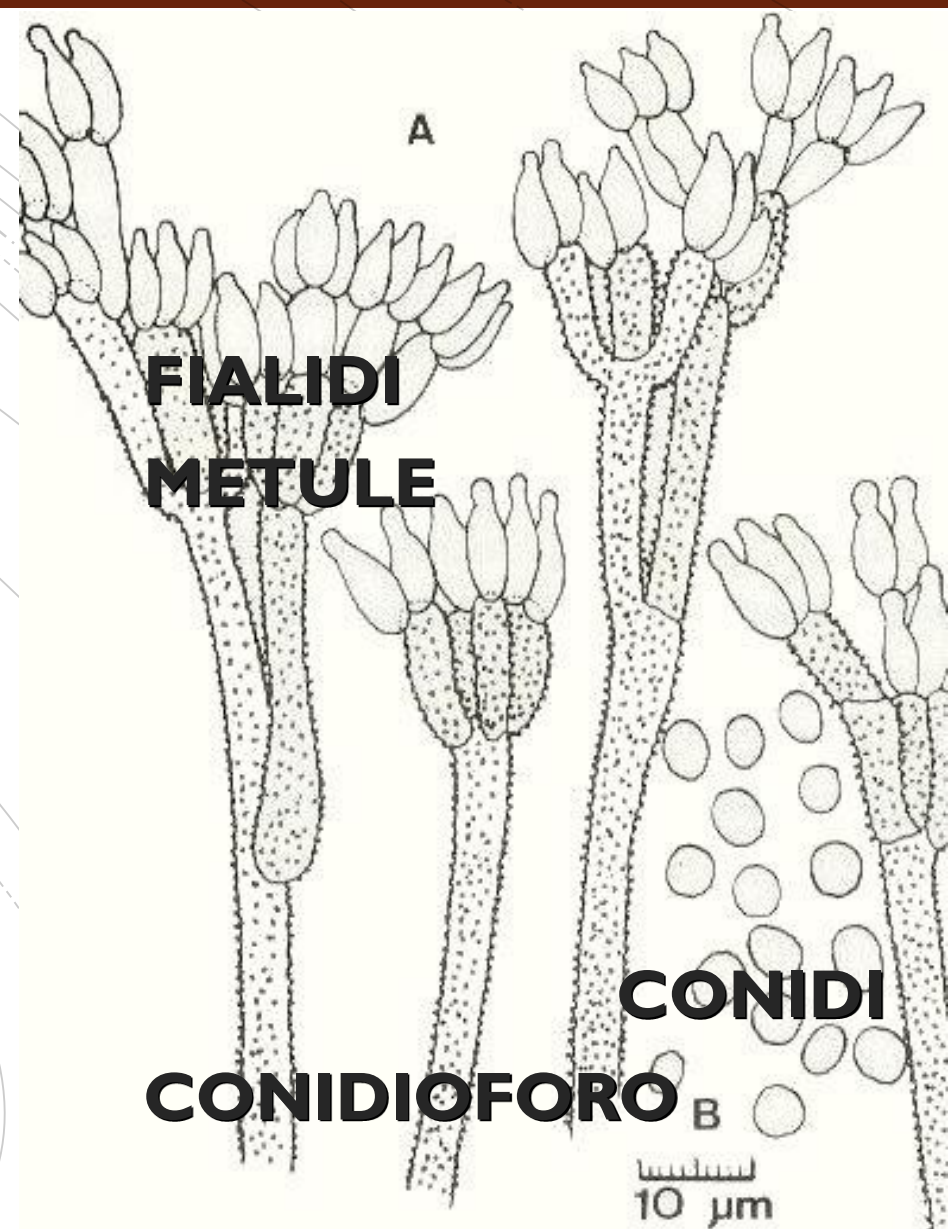
- Genere di funghi imperfetti
- Ife
- Conidiofori portanti sulla vescicola terminale,
 - sia direttamente (uniseriati)
 - sia mediante sterigmi (biseriati),
- cellule (fialidi) produttori conidi unicellulari, da ialini a colori vivaci.
- Il genere comprende almeno 50 specie, diffusissime e ubiquitarie, normalmente saprofiti e degradatrici di ogni sorta di materiale organico.
- Alcune specie xerofile e tossigene sono da annoverare tra i più pericolosi agenti di ammuffimento delle derrate conservate. Pochi isolati sono anche fitopatogeni e possono accumulare micotossine nelle piante infette.





PENICILLIUM

- Genere di funghi imperfetti, ifali.
- Conidi unicellulari, da ialini a colori vivaci, originati da un verticillio di fialidi inserito alla sommità dell'ifa conidiofora sia direttamente (monoverticillati) sia tramite metule (biverticillati o complessi).
- Il genere comprende 96 specie, ubiquitarie, normalmente saprofiti, degradatrici di ogni sorta di materiale organico e capaci di adattarsi alle più disparate condizioni di vita.
- Alcune specie xerofile e/o psicrofile sono da annoverare tra i più pericolosi agenti di ammuffimento delle derrate conservate.
- Almeno il 70-80% delle specie di *Penicillium* sono potenzialmente micotossigene.



FUSARIUM

- Genere di funghi imperfetti, ifali.
- Conidi pluricellulari (macroconidi), fusiformi, ialini, prodotti in sporodochi.
- Alcune specie producono anche microconidi e clamidospore.
- Il genere comprende 50 specie.
- Genere di grande importanza fitopatologica con specie agenti di malattie vascolari (tracheofusariosi) e specie agenti di malattie parenchimatiche (marciumi, cancri).
- Alcuni ceppi delle specie fitopatogene possono iniziare la loro attività tossigena nelle piante infette (cereali), e continuarla poi durante la raccolta e nei prodotti conservati se le condizioni restano favorevoli (contenuto di umidità 20-22%).

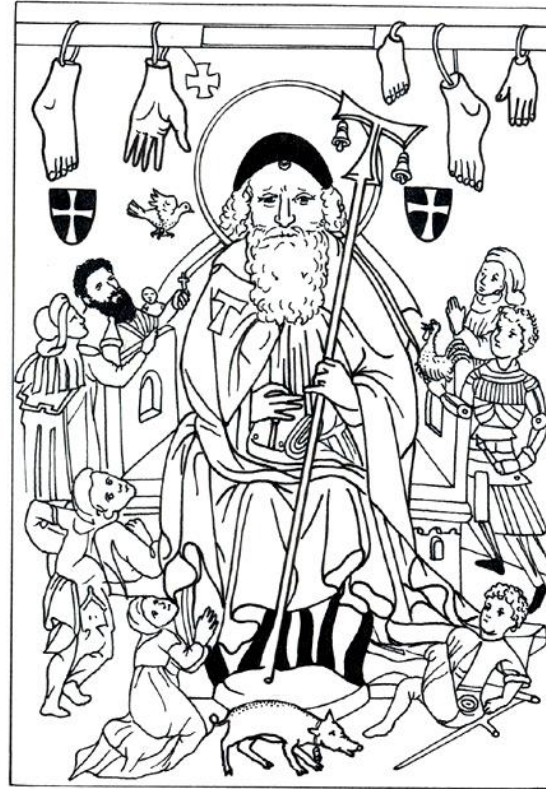


CLAVICEPS

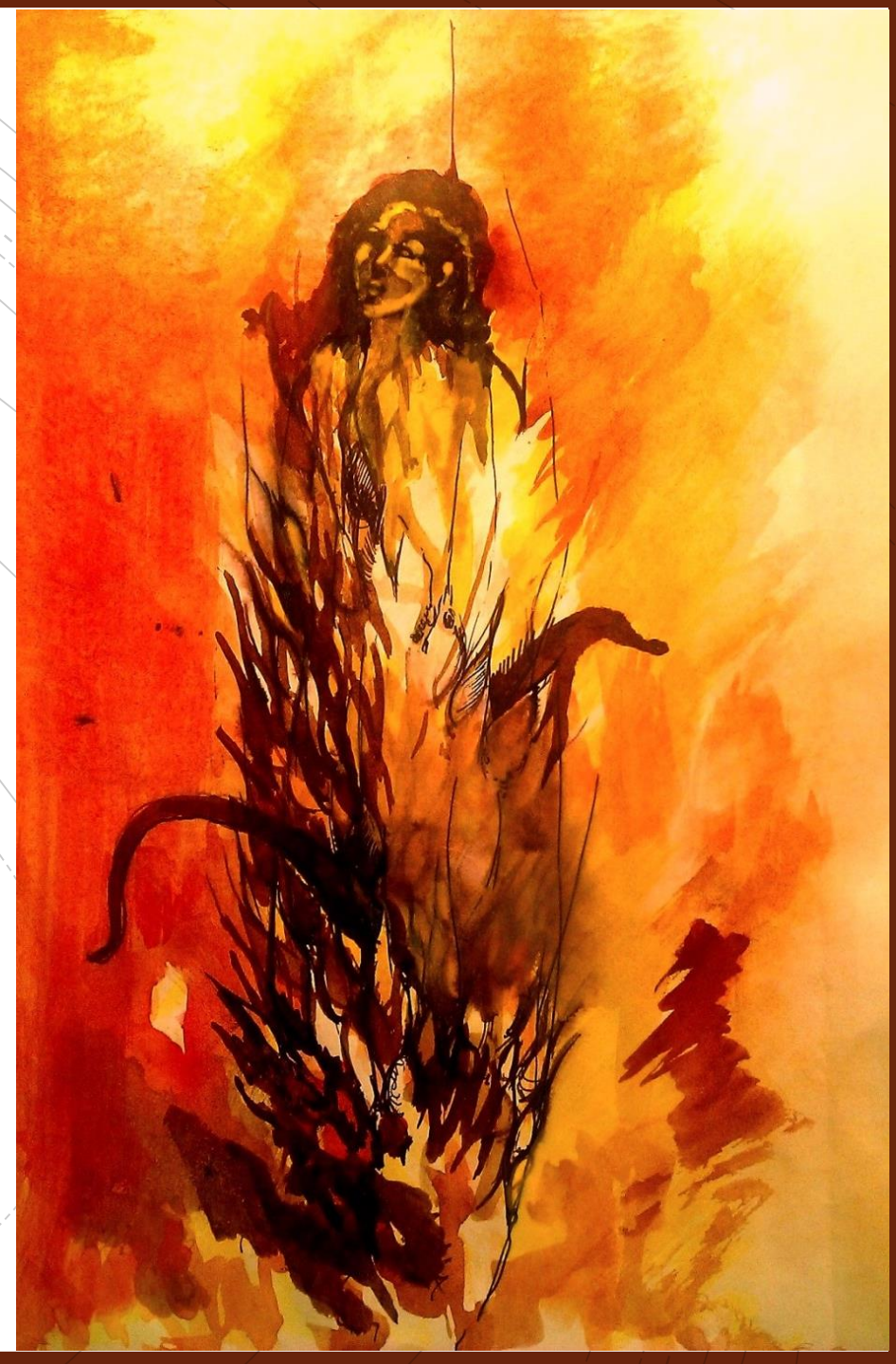
- Genere di funghi ascomiceti
- Ascospore filiformi in aschi cilindrici racchiusi in periteci immersi nello sferidio originato dallo sclerozio.
- Gli sclerozi provengono dalla trasformazione degli ovari come esito finale di infezioni fiorali.
- Dallo sclerozio germinato emerge lo stroma contenente i periteci.
- Il genere comprende 35 specie.
- Dal punto di vista micotossicologico:
 - gli sclerozi si accompagnano alle cariossidi e alle farine,
 - le fruttificazioni (periteci) acquistano un significato particolare per gli animali alimentati con essenze cerealicole infette (foraggio, pascoli).



VELENI DEL PASSATO



- Ergotismo
- Fuoco di Sant'Antonio
- Caccia alle streghe



PRINCIPALI MICOTOSSINE

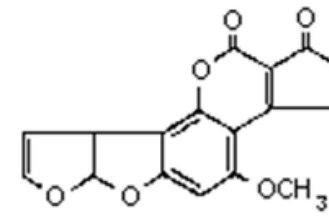
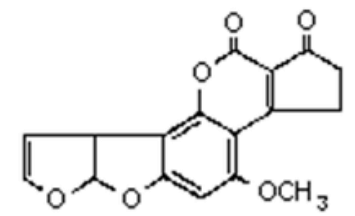
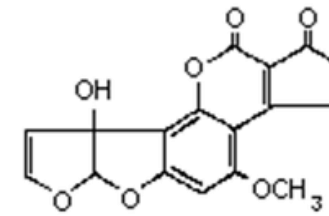
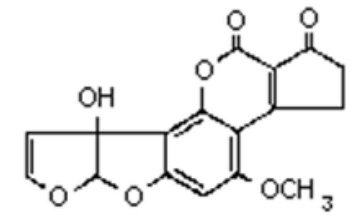
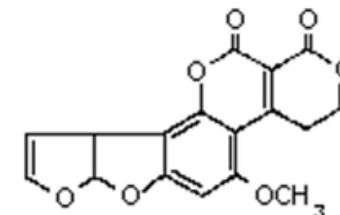
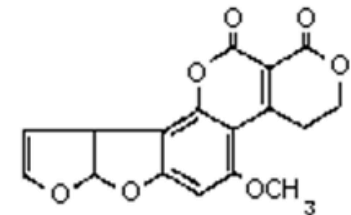
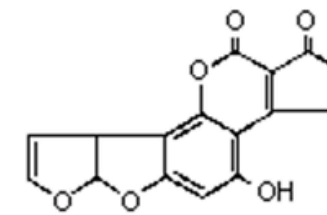
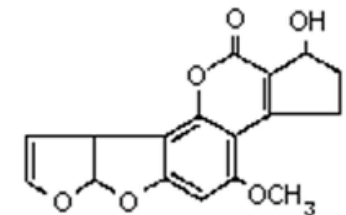
- aflatossine,
- zearalenoni,
- tricoteceni (deossinivalenolo, tossina T-2),
- ocratossine,
- ergoline (alcaloidi di *Claviceps*),
- fumonisine,
- patulina.

AFLATOSSINE

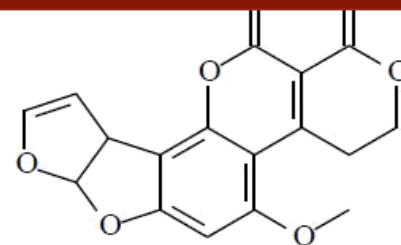
- Le aflatossine sono prodotte esclusivamente da *Aspergillus flavus* e da *Aspergillus parasiticus*, due delle 11 specie del gruppo *A. flavus*.
- *A. flavus* è ubiquitario e produce solo aflatossine di tipo B. Il 45% dei ceppi produce aflatossine.
- *A. parasiticus* è ristretto alle aree tropicali e subtropicali e produce aflatossine di tipo B e G. Il 92% dei suoi ceppi è tossigeno.

AFLATOSSINE

Delle 18 aflatossine descritte, le più frequenti sono:
 ABI, AB2, AG1 e AG2 soprattutto nei prodotti vegetali;
 AM1 e AM2 essenzialmente nel latte.

AFLATOXIN B₁AFLATOXIN B₂AFLATOXIN M₁AFLATOXIN M₂AFLATOXIN G₁AFLATOXIN G₂AFLATOXIN P₁

AFLATOXICOL



MICOTOSSINE - M.L. GULLINO

AFLATOSSINE

- Si formano soprattutto nelle aree tropicali e subtropicali nelle colture e nelle derrate di mais, arachidi, semi oleaginosi, noci e mandorle, cocco, caffè, cacao, spezie, frutta (fichi, pistacchi) e radici (manioca) essiccate naturalmente.
- In alcune annate gravi problemi anche in Italia.



AFLATOSSINE

- Le aflatossine sono metaboliti con attività cancerogena, mutagena e teratogena, dotate di elevata tossicità.
- Il loro ampio spettro di azione scaturisce dalla peculiare capacità di reagire con gli acidi nucleici e le nucleoproteine cellulari, determinando effetti deleteri sulla sintesi proteica e sull'integrità cellulare.
- Sono essenzialmente potenti epatotossine, dotate di elevata attività genotossica, agenti di epatocarcinomi.

ZEARALENONI

- Prodotti da diverse specie di *Fusarium* e in particolare da *F. graminearum* (*Gibberella zeae*) e *F. culmorum*.
- Il composto che, tra i 12 metaboliti caratterizzati, riveste maggiore importanza micotossicologica è lo zearalenone, che a volte si ritrova assieme allo zearalenolo.

TRICOTECENI

- I tricoteceni sono un gruppo di almeno 70 composti biologicamente attivi, prodotti da diversi generi di funghi.
 - *Fusarium* (circa 50 micotossine),
 - *Cephalosporium* (crotocine),
 - *Myrothecium* (roridine e verrucarine),
 - *Stachybotrys* (satratossine),
 - *Trichotecium* (tricotecine),
 - *Trichoderma* (trichodermine).

TRICOTECENI

- I tricoteceni, e in particolar la tossina T-2 e il DON, sono dotati di elevata tossicità acuta.
- La tossina T-2 e derivati hanno una più spiccata attività dermatossica, emorragica e immunosoppressiva e sono responsabili della comparsa negli allevamenti zootecnici (aviari) della Sindrome emorragica (Tossicosi da mais ammuffito): dermatiti orali, gastroenteriti emorragiche e leucopenia.
- Il DON e derivati hanno una più spiccata attività emetica e sono responsabili della comparsa negli allevamenti zootecnici (suini) della Sindrome emetica (e della Sindrome di rifiuto di alimento): vomito, rifiuto di alimento, riduzione del peso corporeo.

AGRI
NOVA

OCRATOSSINE

- Prodotte da diverse specie di *Aspergillus* e di *Penicillium*. Hanno azione nefrotossica.
- Saprofiti, ubiquitari, agenti di ammuffimento di granaglie, mangimi e alimenti.
 - *A. ochraceus* colonizzatori di colture tropicali e subtropicali (caffè, cacao) nonché di prodotti da forno;
 - *A. alliaceus* colonizzatori di mandorle e fichi delle aree temperate più calde;
 - *A. carbonarius* colonizzatori di uva e derivati;
 - *P. verrucosum* colonizzatori dei cereali (orzo, frumento, segale) delle aree temperate più fredde.

OCRATOSSINE

- Delle 9 ocratossine descritte, solo l'ocratossina A riveste importanza micotossicologica.
- In qualche circostanza è stata trovata anche l'ocratossina B.
- Per la crescita dei funghi produttori di ocratossine sono necessari un contenuto minimo di umidità del 15-16% per i cereali e del 7% per le arachidi, e temperature di 4-37°C.
- Le temperature più elevate favoriscono l'attività di *A. ochraceus* (12-37°C) che è più diffuso nelle regioni tropicali.
- Le temperature più basse sono favorevoli a *P. verrucosum* (4-31°C) che invece è più diffuso nelle regioni fredde.
- I prodotti che con più frequenza vengono trovati contaminati da ocratossine vi sono:
 - Cereali, legumi, caffè, prodotti da forno (pane), vino, birra, mangimi.
 - Particolarmente importante è la diffusione di ocratossine nei mangimi in concentrazioni tali da giustificare le ricorrenti ocratossicosi negli allevamenti di suini e di specie aviarie.
 - Tracce di ocratossine, essendo molto persistenti, si ritrovano anche nelle carni di maiale (sangue, reni, fegato, muscoli).

FUMONISINE

- Delle quattro serie di fumonisine caratterizzate, il composto più importante per diffusione e tossicità è la fumonisina B₁ (FB₁), prodotta essenzialmente da ceppi di *F. verticillioides* e di *F. proliferatum*, agenti sistemici di fusariosi del culmo e di marciume della spiga di mais.
- Per tale attività cancerogena, la FB₁ è stata inclusa tra le sostanze del Gruppo 2B: sostanze sicuramente cancerogene per gli animali e probabilmente anche per l'uomo (tumore esofago).

PATULINA

- Prodotta da *Penicillium expansum*, si ritrova in succhi di frutta e preparati a base di frutta.
- In casi particolari, può interessare **anche il 30-40% dei frutti.**



PENICILLIUM EXPANSUM

Il maggiore produttore di patulina

Agente eziologico del marciume
verde-azzurro delle mele e pere

- Mele e pere più suscettibili durante le fasi finali di conservazione e maturazione.
- Cultivar più colpite di pere: “**Conference**” e “**Kaiser**”
- Cultivar più suscettibile di mele: “**Golden delicious**”.



PATULINA

- Prevenzione della formazione di ferite;
- Buone pratiche igieniche;
- Lotta chimica in preraccolta;
- Lotta biologica o termoterapia in postraccolta.





AGRNNOVA

SIGNIFICATO BIOLOGICO E IMPORTANZA ECONOMICA





AGRI INNOVA

SIGNIFICATO BIOLOGICO ED IMPORTANZA ECONOMICA

- Quasi tutti i prodotti vegetali sono idonei per la crescita di funghi tossigeni,
- La formazione di micotossine nelle piante infette o nei prodotti conservati è una eventualità incombente che porta spesso alla comparsa di **micotossine nei mangimi e negli alimenti**.
- La valutazione del significato biologico delle micotossine e del loro peso economico, presuppone la conoscenza di:
 - ✓ **Formazione (origine)**
 - ✓ **Diffusione**
 - ✓ **Persistenza**
 - ✓ **Tossicità**
 - ✓ **Danno economico**

ORIGINE DELLE MICOTOSSINE

Le micotossine possono essere formate dai funghi tossigeni:

- nelle colture infette ancora in campo,
- nei prodotti durante la raccolta,
- nel corso della conservazione e del trasporto dei prodotti,
- nel corso delle preparazioni alimentari (alimenti e mangimi).

DIFFUSIONE

Prodotti a maggior rischio di contaminazione

- **mais** e altri **cereali** (riso, sorgo, frumento, orzo); AZTOEF
- **arachidi** e altri **legumi** (fagioli, piselli, fave, soia); AO
- **semi oleaginosi** e oli derivati (cotone, cocco, lino, girasole); A
- prodotti vegetali freschi, essiccati e torrefatti (**fichi, mele, uva, pesche, caffè, cacao**); AO
- spezie (**peperoncino, pepe**) ed erbe per infusioni; A
- diversi tipi di **mandorle, noci e pistacchi** soprattutto delle aree sub-tropicali; AO
- radici carnose (**batata, cassava**); A
- prodotti fermentati (**birra, vino, sidro, brodi proteici**); O
- prodotti animali (**latte alimentare, formaggi, pesci e gamberetti; sangue e altri organi di animali zootecnici**); AO
- **mangimi** a base di pannelli di arachide, cotone, cocco, o di mais. AZOF

DIFFUSIONE

- Le conoscenze che si hanno oggi del problema micotossicologico, hanno consentito una riduzione di ritrovamenti di **contaminazioni elevate**, abbastanza frequenti in passato.
- Attualmente è più frequente il ritrovamento di **micro-contaminazioni**, cioè di presenze più diffuse ma in concentrazioni molto più contenute.
- **contaminazioni di campo**: peso considerevole sulla sanità finale dei prodotti alimentari. Soggette come sono a imprevedibili eventi naturali, costituiscono un rischio tra quelli meno evitabili.
- **contaminazioni già presenti alla raccolta**: grave pregiudizio per la successiva conservazione e trasformazione del prodotto.

PERSISTENZA

- Le micotossine sono **molto stabili** e persistono nei prodotti contaminati anche molto tempo dopo la morte del fungo produttore.
- Le micotossine **non** sono completamente distrutte o allontanate dai normali processi impiegati dalle industrie nelle preparazioni alimentari:
 - fisici (cernita, calore, radiazioni),
 - chimici (estrazione, raffinazione),
 - biologici (fermentazione).
- Le stesse micotossine o loro derivati ancora attivi si possono ritrovare nei prodotti della fermentazione (vino, birra, sidro, yogurt, brodi proteici).

AGRI
INNOVA

PERSISTENZA

- La presenza di micotossine nei mangimi non ha solo effetti negativi sulla salute degli animali in produzione zootecnica, ma può portare al passaggio (*carry over*) di micotossine o loro derivati ancora attivi negli alimenti di origine animale.
- Tale eventualità ha una notevole portata pratica per il latte, i formaggi e i prodotti lattiero-caseari, mentre è trascurabile per le uova e la carne.

The logo for AGRI INNOVA features a stylized yellow lightbulb with a green plant stem inside it, positioned above the text "AGRI INNOVA" in a dark green, sans-serif font.

DANNI ECONOMICI

- La formazione di micotossine nelle colture e nei prodotti conservati ha una portata economica, causando:
 - perdite di prodotto;
 - mercato meno favorevole;
 - prezzi più ridotti;
 - spese per la decontaminazione;
 - minore credito sulle scorte.
- Negli allevamenti:
 - perdite di produzione;
 - costo igienico-sanitario.

The logo for 'AGRI INNOVA' features a stylized yellow lightbulb with a green plant stem inside it, positioned above the text 'AGRI INNOVA' in a dark green, sans-serif font.

DANNI ECONOMICI

- Nei **Paesi industrializzati**, dove le contaminazioni sono più contenute, le conseguenze sono **economiche**. Nel Nord-America perdite stimate nell'ordine di miliardi di dollari per anno.
- Nei **Paesi emergenti**, dove le tecnologie agro-colturali e i processi alimentari non sono adeguati, oltre ai **danni economici diretti**, vi sono **danni socio-economici indiretti** derivanti dal severo impatto che hanno le micotossine sulla salute umana.



AGRNNOVA

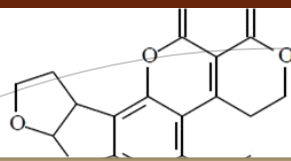
INTERVENTI



The logo for AGRI INNOVA features a stylized yellow lightbulb with a green plant stem inside it, positioned above the text 'AGRI INNOVA' in a dark green, sans-serif font.

INTERVENTI PER EVITARE LA PRESENZA DI MICOTOSSINE

- Strategie di prevenzione e contenimento:
 - in pre-raccolta, subito dopo la raccolta e in post-raccolta.
- Elevata resistenza ai più comuni **mezzi fisici, chimici e biologici di preparazione, conservazione e sanificazione** dei prodotti alimentari.
- Interventi legislativi e sanitari.
- Gli interventi più efficaci sono essenzialmente preventivi.



ALTERNANZA SCUOLA-LAVORO

Argomenti:

- Estrazione DNA
- Analisi PCR - diagnostica molecolare
- Elettroforesi
- Preparazione campioni suolo e piante
- Preparazione substrati di coltivazione
- Analisi al microscopio
- Estrazione e analisi di micotossine
- Sperimentazioni in serra
- Prove conservazione frutta



AGRNNOVA

12/01/2019

57

VI ASPETTIAMO!

Campus Universitario di Grugliasco
Largo Paolo Braccini 2, 10095
Grugliasco (TO)

AGROINNOVA
RESEARCH BEARS ITS FRUITS

www.agroinnova.unito.it
segreteria.gullino@unito.it

Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo Agro-ambientale
dell'Università degli Studi di Torino


AGROINNOVA
MICOTOSSINE - M.L. GULLINO