

MICOTOSSINE e MICOTOSSICOSI

- Dr. Nunzio Minniti
- Scuola di Specializzazione in
Microbiologia e Virologia



MICOTOSSINE

Il termine micotossine comprende numerosi metaboliti secondari con attività tossica, prodotti in opportune condizioni microclimatiche da funghi microscopici e filamentosi, meglio noti come "muffe".



Cenni Storici

- 1850: dimostrazione dell'associazione tra l'ingestione di segale contaminata con sclerozi di *Claviceps purpurea* e la comparsa di casi di **ergotismo**.
- 1940: tossicosi alimentare correlata all'ingestione di cereali colonizzati da *Fusarium sporotrichoides* e da *F. poae* (Russia)
- 1960: Identificazione delle aflatossine prodotte da *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, e correlazione con la malattia X del tacchino.

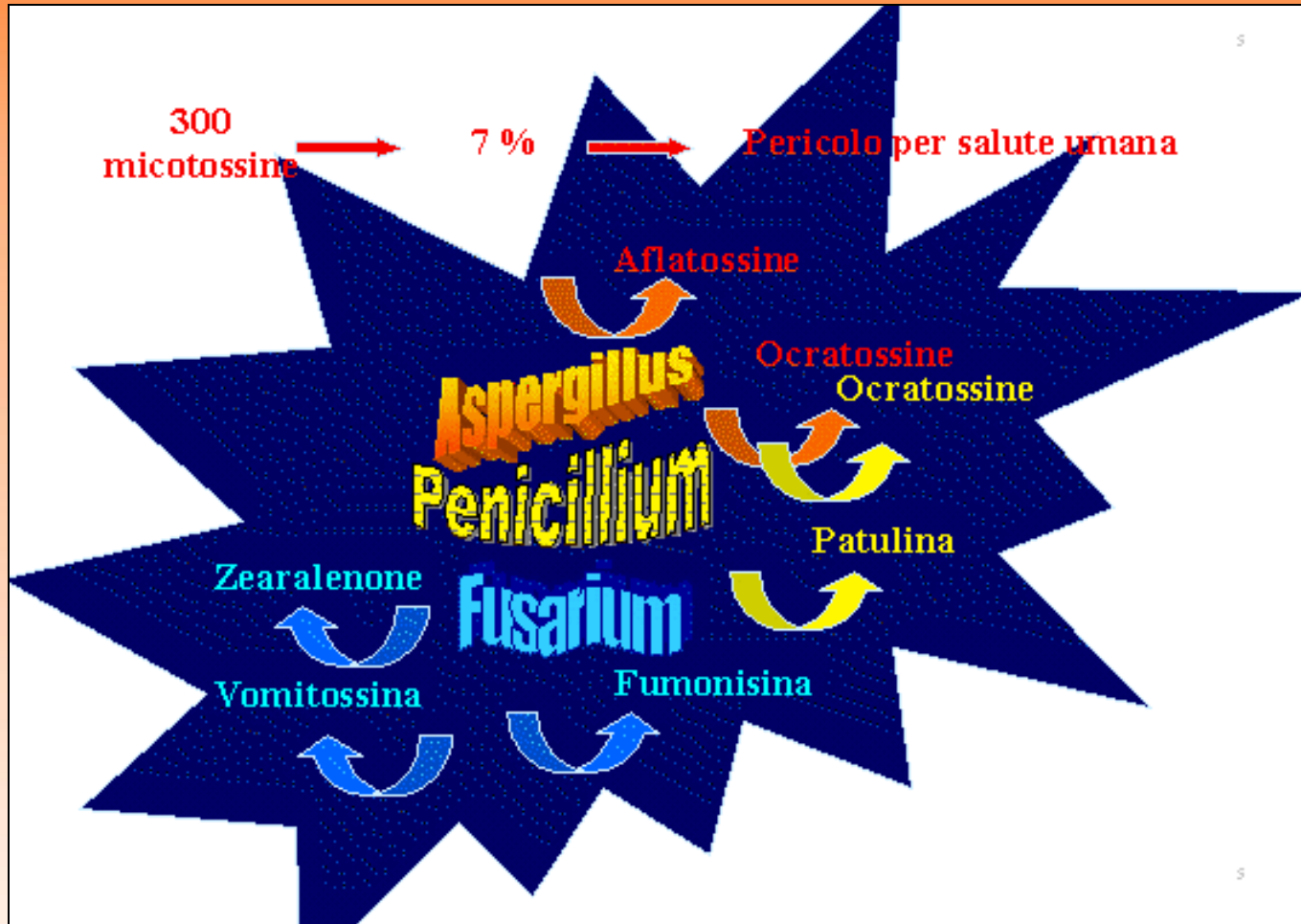


Micotossine

- Sono metaboliti secondari tossici per gli animali superiori. Non si identifica, infatti, un loro ruolo evidente nella crescita dell'organismo che le produce.
- Non costituiscono una classe chimica, infatti hanno strutture diverse.



Muffe produttrici di Micotossine



Effetti Biologici

Le micotossine mostrano una notevole gamma di effetti biologici dovuti alla loro capacità di interagire con diversi organi e/o sistemi bersaglio (Hsieh, 1987). Per tale ragione esse sono classificate in (Krogh, 1974):

- Immunotossine
- Dermatossine
- Epatotossine
- Nefrotossine
- Neurotossine



Effetti biologici

In base al loro effetto cronico si distinguono in (Krogh, 1974):

- Mutagene
- Cancerogene
- Teratogene

Tutte queste attività biologiche sono dovute ad interazioni delle micotossine e/o ai loro derivati con DNA, RNA, proteine funzionali, cofattori enzimatici e costituenti di membrana.



Produzione di Micotossine

- Non tutti i ceppi di una specie fungina producono micotossine.
- La presenza di funghi tossigeni in un alimento non implica la presenza di micotossine nello stesso.
- Le tossine possono persistere per lungo tempo dopo la crescita vegetativa e la morte e/o la eliminazione del fungo.
- L'analisi micologica non permette quindi di quantificare il rischio tossico proprio di un prodotto alimentare, rischio che può essere quantificato solo attraverso l'analisi delle micotossine note o con test di tossicità.

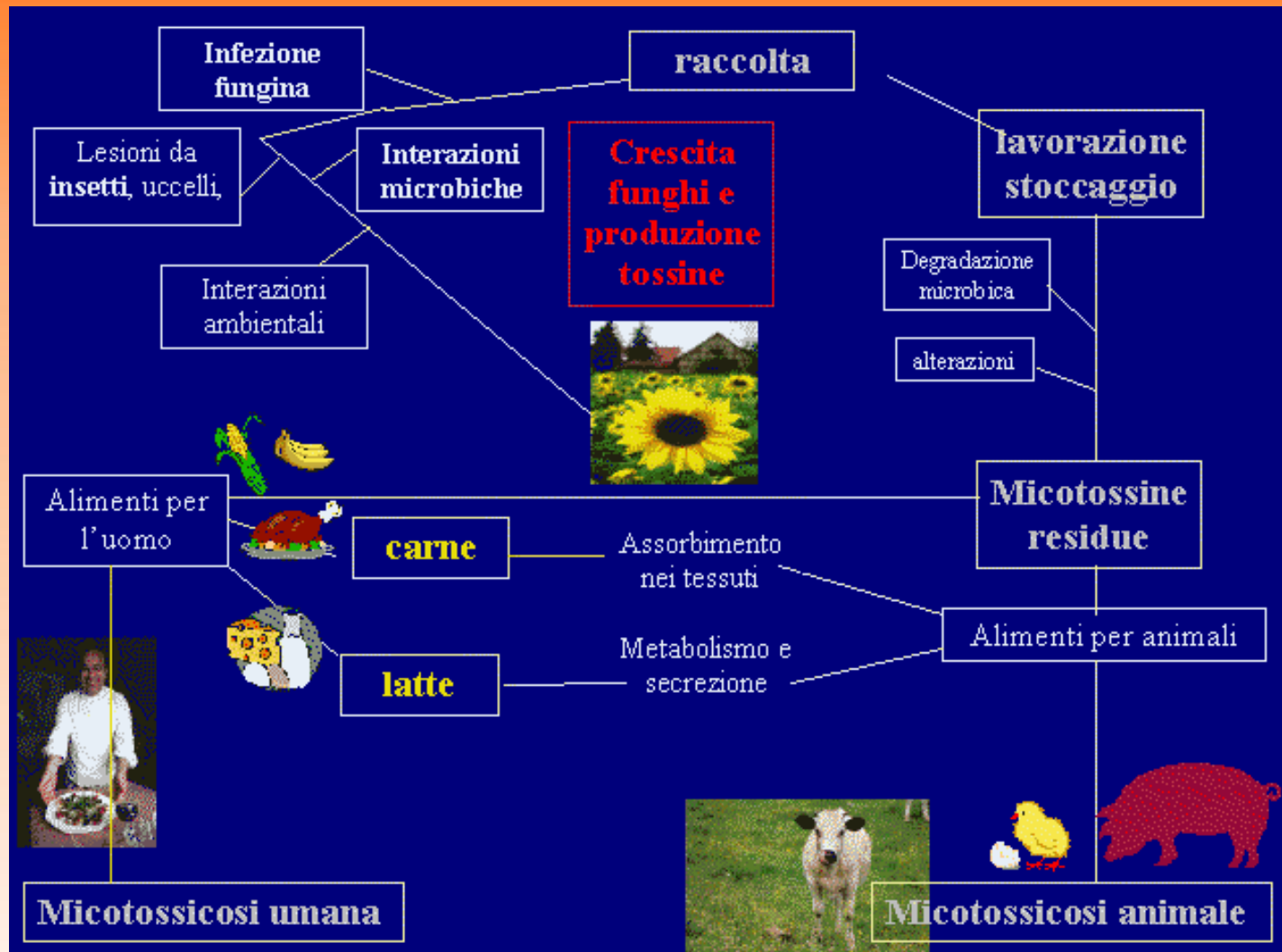


Produzione di Micotossine

- Le derrate alimentari, le granaglie ed i mangimi per gli animali rappresentano i substrati ideali per l'accrescimento dei funghi produttori di micotossine (Smith, 1991).
- Lo sviluppo di muffe tossigene e la successiva sintesi di micotossine può avvenire in qualsiasi fase del ciclo produttivo dell'alimento, a partire dalla coltivazione fino ad arrivare al consumo.
- Le micotossine possono giungere al nostro tavolo sia direttamente attraverso le derrate vegetali contaminate (frutta tropicale, frutta secca, frutta a guscio, cereali, spezie, piante infusionali, ecc.) che mediante ingestione da parte del bestiame e successiva metabolizzazione e stoccaggio nei tessuti, qualora non sussistono casi acuti di micotossicosi animale.



Crescita fungina e produzione di tossine



Formazione durante la coltivazione

Fusarium:

- Piante più colpite: Frumento e mais.
- Persiste nel suolo mediante la formazione di forme di resistenza (ascospore).

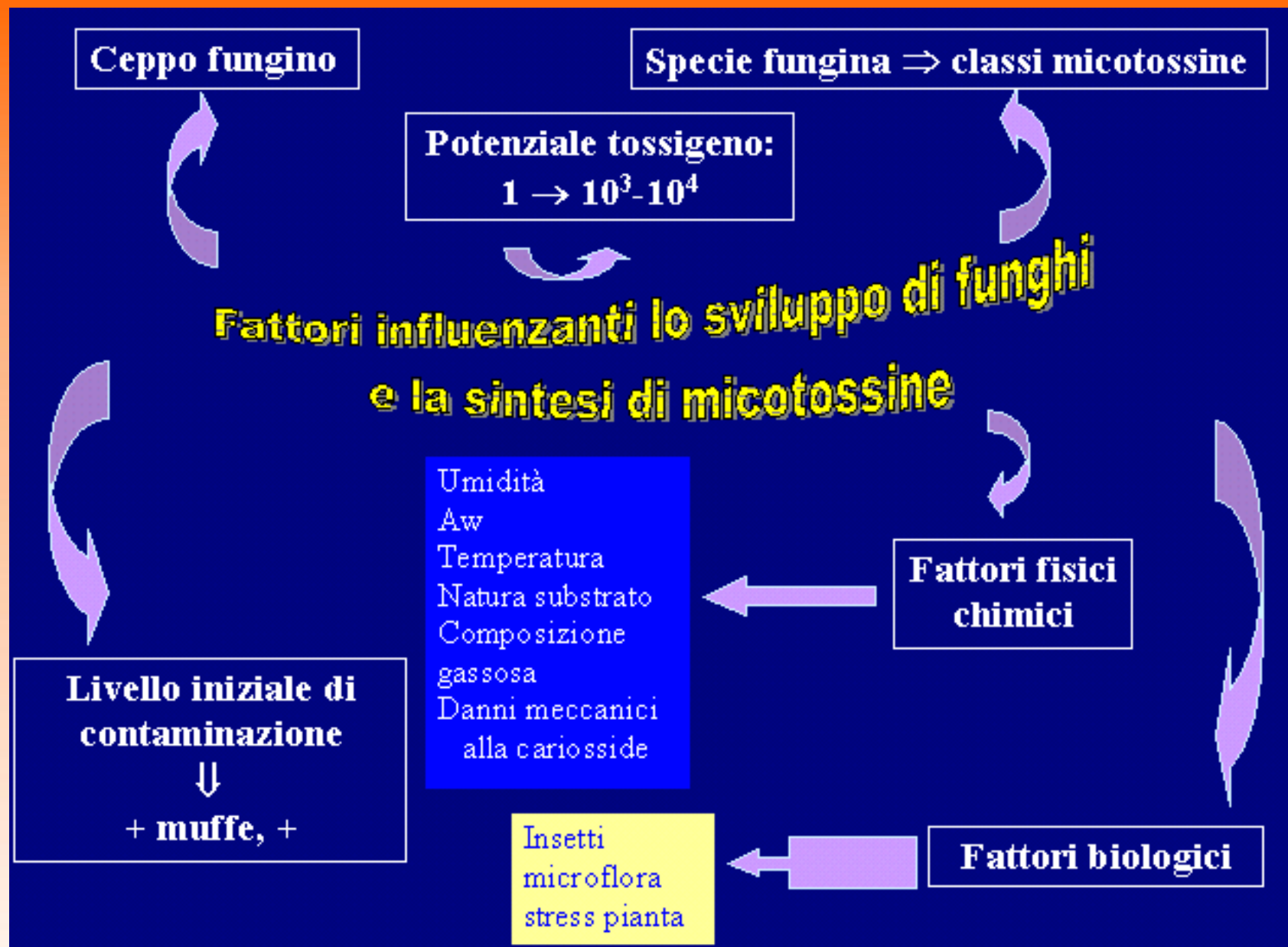
Aspergillus, (flavus e parassiticum)

- Piante più colpite: mais, arachidi, noci, pistacchi, avena, riso, orzo etc.

Formazione durante lo stoccaggio

- Durante la fase di stoccaggio degli alimenti si verifica principalmente la produzione di tossine da parte di *Aspergillus* e *Penicillium* (aflatossina, ocratossina).
- Al contrario di quanto si verifica durante la coltivazione (formazione di aflatossine in paesi tropicali e sub-tropicali), la sintesi delle aflatossine durante lo stoccaggio può avvenire anche nelle zone temperate e più fredde.





Trattamenti di risanamento

I trattamenti tecnologici, se effettuati correttamente, sono spesso in grado di inattivare gran parte delle micotossine presenti nell'alimento,

Metodi di detossificazione:

- detossificazione fisica:
- calore secco e umido (cottura in forno, autoclave, arrostitimento, torrefazione, friggitura);
- irraggiamento solare e con microonde.
- detossificazione chimica:
- acqua ossigenata (succhi di frutta, brodi proteici, latte);
- ammoniacale (semi e panelli di arachidi, di cotone e di mais);
- idrossido di calcio;
- aldeide formica;
- etere metilico.



Trattamenti di risanamento

Degradazione dell'aflatossina B₁ da trattamenti termici

	Trattamento	% degradazione
Arachidi	150°C, 30 min.	80
Prod. Arachidi	204°C	40 – 50
Mais	145 – 165 °C	40 – 80
Farina frumento	120°C, 30 min.	80
Farina arachide	Autoclave, 120°C, 4 ore	95
Frutta e spezie	Autoclave, 120°C, 30 min.	29 – 39
Riso	Cottura a pressione, 120°C	73



Trattamenti di risanamento

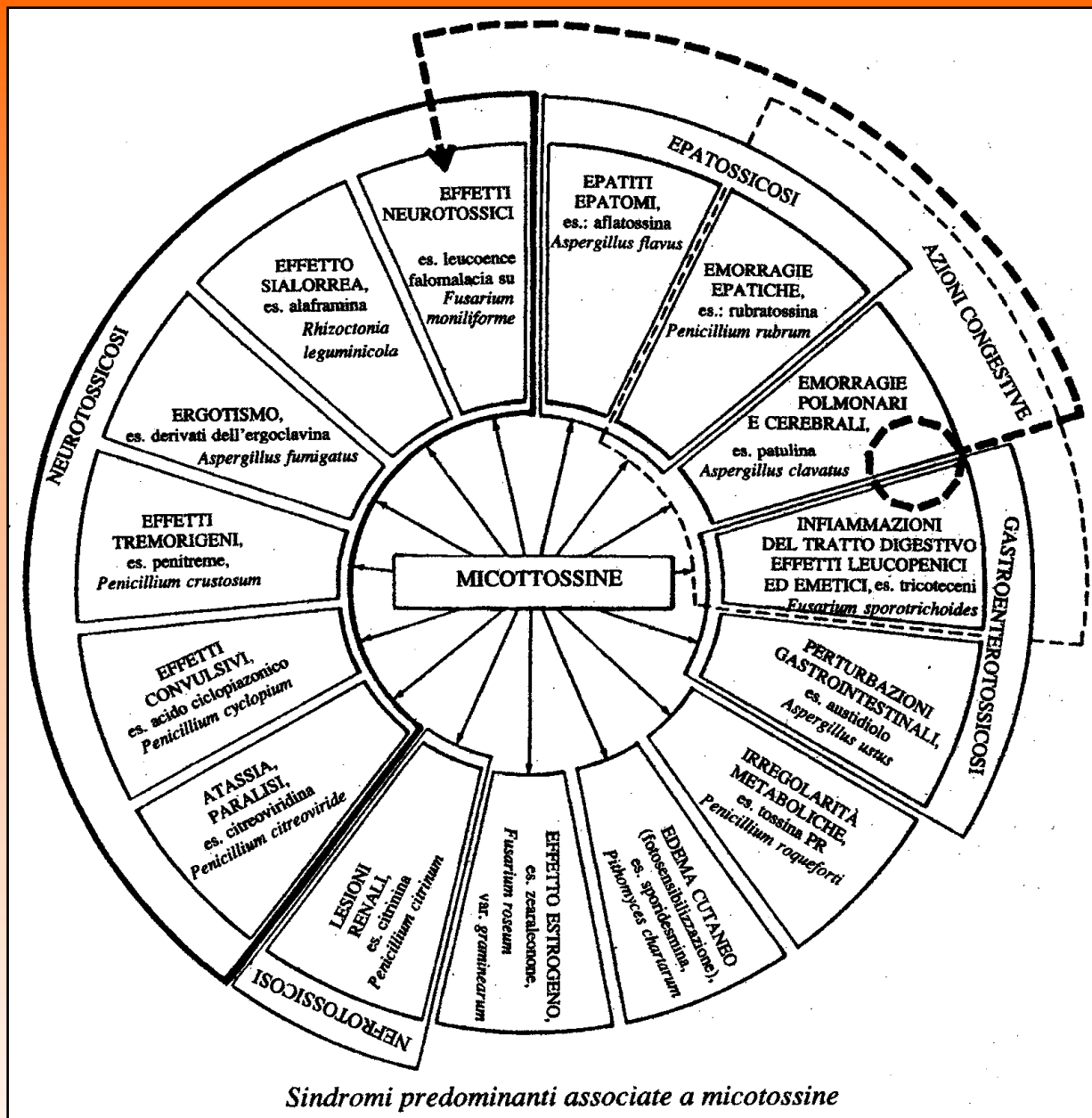
Degradazione dell'ocratossina A e della vomitossina da trattamenti termici

Ocratossina	Trattamento	degradazione%
Caffè	Tostatura	80 – 90
Cereali	Autoclave, 120°C, 3 ore	70
Vomitossina	Trattamento	degradazione%
Farina frumento	Cottura forno	19 – 69



Tossinogenesi





Effetti delle micotossine sulla salute umana e animale

- Le micotossine possono provocare svariate patologie a danno di animali e persone.
- L'impatto economico dovuto alla perdita produttiva è incrementato dalla compromissione immunitaria (danno leggero cronico agli organi vitali ed ai tessuti), ed alla ridotta capacità produttiva.



Aflatossine

Aspergillus flavus e *A. parassiticus*



Aflatossine

- Metaboliti con elevata tossicità acuta, dotati anche, di attività cancerogena, mutagena e teratogena.
- 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.
- Potenti epatotossine, agenti di epatocarcinomi (Eaton e Groopman, 1994).
- Oncogene ed immuno-soppressive, riducono sensibilmente le difese immunitarie del nostro organismo alterando il metabolismo degli interferoni coinvolti nelle risposte immunitarie e nelle reazioni antinfiammatorie.
- Danni di tipo acuto dovuti alle aflatossine quali emorragie, dovute a fragilità capillare, necrosi degli epatociti sono evidenti dopo appena 3-6 ore dall'ingestione.



Aflatossine: produzione

- Le Aflatossine possono formarsi sia nelle piante infette (arachidi, mais, frumento, cotone, pistacchio, diversi tipi di mandorle), sia nelle derrate già riposte in magazzino.
- Il contenuto minimo di umidità per la crescita delle specie Aflatossigene nelle granaglie è, approssimativamente, dell'85% di umidità relativa e a 0,78 di acqua libera.
- La crescita delle specie Aflatossigene avviene nell'intervallo termico 6-46°C, mentre per la sintesi delle Aflatossine sono richieste temperature comprese tra 8 e 42°C (Wyllie e Morehouse, 1977).
- Possono essere presenti anche nel latte, qualora le vacche siano alimentate con prodotti zootecnici molto contaminati.

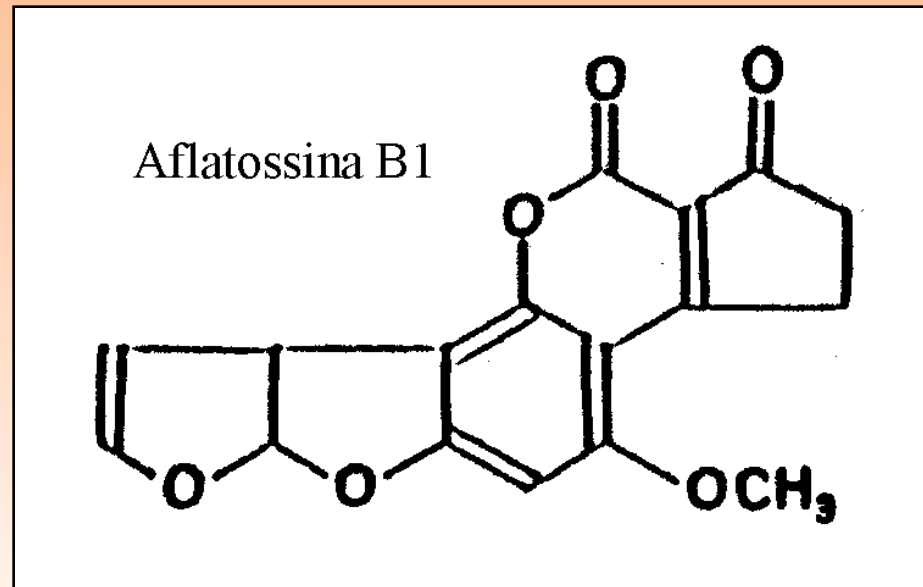


Aflatossine

Sono conosciute 18 Aflatossine, le più frequenti, ritrovate come contaminanti naturali sono:

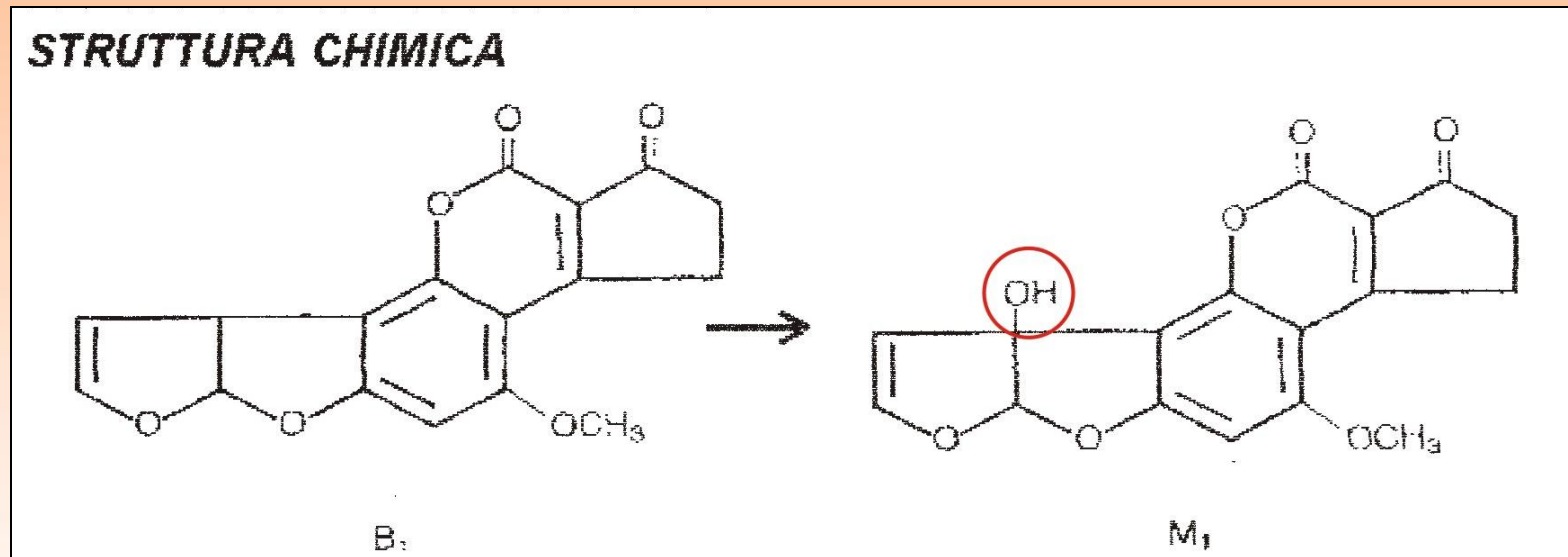
- **B1 - B2 - G1 - G2** (in prodotti di origine vegetale)
- **M1 - M2** (carne - latte)

L'aflatossina B1 è la più tossica delle aflatossine ed agisce come un potente agente carcinogenico e mutagenico avente come organo bersaglio il fegato.



Aflatossina M1

Sottoprodotto del metabolismo epatico di detossificazione dell'Aflatossina B1 ottenuto mediante una reazione di idrossilazione che conduce ad una molecola più polare e meglio trasportabile attraverso il circolo sanguigno (discorso analogo per la Aflatossina M2 che proviene dalla detossificazione della Aflatossina G1).



Aflatossine

Fattore di conversione in prodotti di origine animale

Prodotto	Fattore di conversione	Aflatossine
Latte	170-300	M1-M2
Uova	2200	B1,B2,G1,G2
Fegato bovino	14000	B1,B2,G1,G2
Fegato suino	800	B1,B2,G1,G2
Fegato di pollo	2200	B1,B2,G1,G2



Aflatossine in Italia: 1995-1996 (ISS)

Alimenti	% pos.	Media pos. (ppb)	Max (ppb)
Cereali colazione	30,0	5,8	12,1
Crusca	33,33	6,0	24,6
Peperoncino	90,7	20,1	504,0
Pasta al peperoncino	80,0	29,1	150,2
Marzapane	28,0	2,4	7,2
Olio extra vergine di oliva	6,67	-	2,3
Olio oliva	15,0	5,2	11,2



Aflatossine B₁ e M₁ in Italia: SCOOP EU, 1995

Alimenti	Anno	% pos.	Max (ppb)
Noci	89-95	0,0	-
Arachidi e derivati	89-95	8,53	789
Pistacchi	91-94	18,18	2,4
Frutta secca	89-95	12,84	52
Fichi secchi	90-94	3,36	52
Cereali	86-95	21,26	12,4
Spezie	93-95	45,71	204
Prodotti dolciari	90-92	16,67	0,8
Bevande	92	0,0	-

Livelli di AFL M₁ in campioni di latte di produzione nazionale (ng/L)

Anno	Positivi %	1 – 10	11 – 50	> 50
1984	41,5	22,0	8,5	11,0
1985	25,3	14,1	8,7	2,5
1990-92	68,2	46,0	22,2	0,0
1993-94	100	8,6	48,1	43,3
1994	100	23,6	60,0	16,4
1994-95	89,8	52,5	29,7	7,6

Tabella di conversione

Ppm	mg/Kg
Ppb	µg/Kg
Ppt	ng/Kg



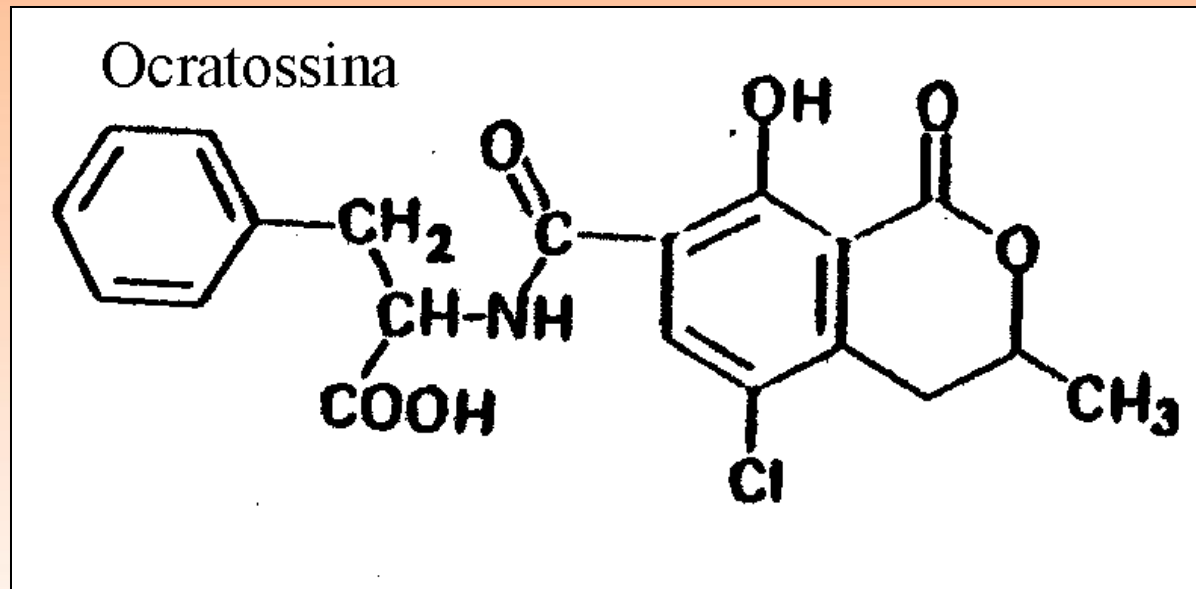
CIRCOLARE 09/06/99 N. 10

	AFL B₁ ppb	AFL B/G ppb	AFL M₁ ppb	OCR A ppb	PAT ppb	ZEA ppb
Alimenti infanzia		0,1	0,01	0,5		
Spezie	10	20				
Caffè crudo				8		
Caffè tostato e solubile				4		
Cacao e derivati				0,5		
Birra				0,2		
Succhi frutta					50	
Carne suina e derivati				1		
Cereali e derivati				3		100
Piante infusio- nali e parti	5	10				



Ocratossine

Aspergillus ochraceus e *Penicillium viridicatum*



Ocratossine

- Nefrotossine dotate di notevole tossicità;
- Si conoscono 9 ocratossine, la più importante è la A seguita dalla B (Visconti e Bottalico, 1983).
- Producono intossicazioni:
 - **Acute:** con manifestazioni emorragiche e diarroiche.
 - **Croniche:** con importanti lesioni renali.



Effetti sugli animali

Particolarmente sensibili sono gli animali monogastrici (suini e specie aviare), dove inducono patologie renali, mentre la maggiore resistenza degli animali poligastrici (bovini e ovini) è dovuta al fatto che l'Ocratossina viene inattivata dalla flora ruminale.



Effetti sull'uomo

- Le Ocratossine sembrano coinvolte in una Nefropatia micotossica dell'uomo (Nefropatia balcanica endemica dell'uomo) (Marasas e Nelson, 1987; Castegnaro et al., 1991) che si manifesta nel 3-8% della popolazione balcanica femminile rurale compresa tra i 30 e i 50 anni (Krogh, 1974).
- Inoltre, l'Ocratossina A è una micotossina di tipo fetotossica ed immunosoppressiva e sono ben note le sue attività teratogeniche e carcinogeniche.

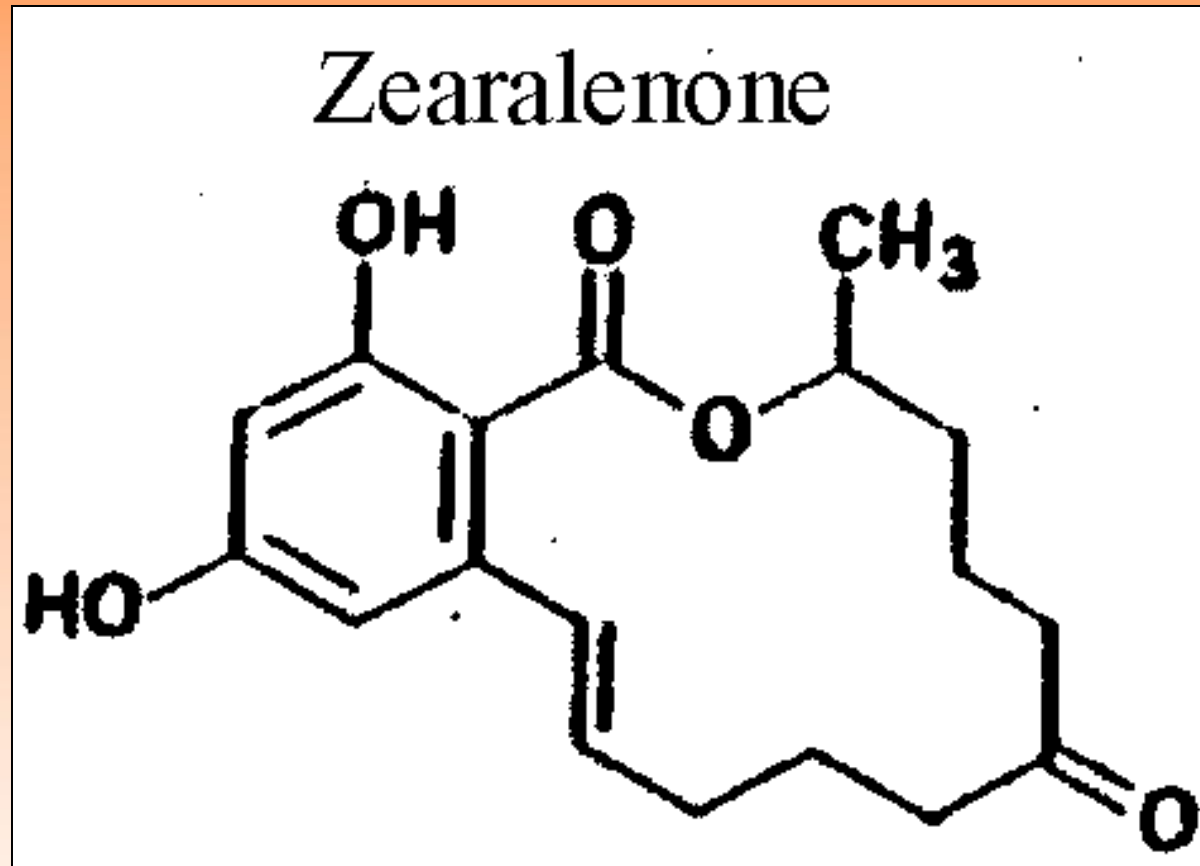


Ocratossina A in Italia: SCOOP EU, 1995

Alimenti	Anno	% pos.	Media (ppb)	Max (ppb)
Mais	82-84	25,74	0,7	2,0
Caffè verde	89	58,62	1,9	15,0
Crusca	90-93	14,29	4,5	11,0
Alimenti estrusi	90-93	53,33	6,3	15,0
Frumento tenero	90-93	100,00	1,4	2,6
Frumento duro	90-93	90,00	2,7	5,6
Riso	90-93	53,33	0,3	1,0



Zearalenone



- Micotossine prodotte da almeno 8 diverse specie tossigene del genere *Fusarium*, in particolare da *F. graminearum*, da *F. culmorum*, e da *F. equiseti*, diffusi colonizzatori di cereali.
- Gli isolati fitopatogeni possono iniziare la loro attività tossigena nelle colture cerealicole infette (Mais, Frumento, Sorgo, Orzo, Avena) e continuarla durante la raccolta e nei prodotti conservati (granaglie, insilati, fieni) se le condizioni restano favorevoli (contenuto di umidità dei prodotti del 20-22% e alternanza di temperature diurne di 22-25° C e notturne di 12-15° C che stimolano la formazione di Zearalenone).



Alimenti interessati

I prodotti più frequentemente interessati sono essenzialmente i cereali (cariossidi, sfarinati, mangimi, alimenti) ed in modo particolare il mais. Anche in Italia, è possibile trovare Zearalenone non solo nelle spighe di mais infette, ma anche negli insilati (silomais) (Bottalico et al., 1989).



Effetti sugli animali

- Negli animali, gli Zearalenoni non sono dotati di tossicità acuta e, piuttosto che come micotossine, andrebbero meglio considerati come sostanze ormonali dotate di attività anabolica e uterotrofica.
- Con l'aumentare della concentrazione essi determinano uno sconvolgimento delle attività ormonali legate alla riproduzione, che porta a ipofertilità e iperestrisimo (**Sindrome estrogenica**) (Marasas e Nelson, 1987).



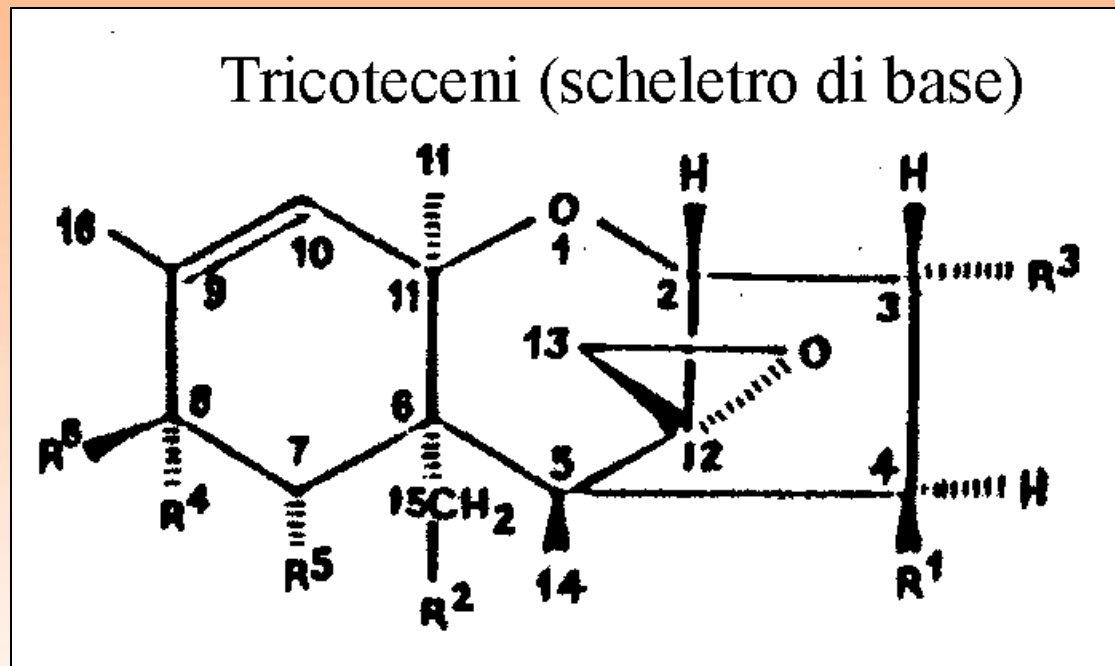
Effetti sull'uomo

- Il loro meccanismo d'azione è sempre di tipo ormone-simile; alterano in maniera sensibile il ciclo riproduttivo con fenomeni di ipofertilità (**Sindrome estrogenica**).
- Il loro bersaglio è rappresentato dai recettori proteici citosolici degli ormoni estrogenici.
- Si osservano, inoltre, delle pseudo-gravidanze e diminuzione della libido.
- E' stata accertata, infine, la correlazione tra la presenza degli zearalenoni e l'elevata incidenza di cancro cervicale.



Tricoteceni (deossinivalonolo)

Fusarium



Tricoteceni

- I tricoteceni sono tutti altamente tossici a livelli subcellulare, cellulare e degli organi;
- Sono dei composti contenenti funzioni idrossiliche OH, polari e solubili in solventi organici polari. Queste caratteristiche dei tricoteceni giustificano la loro facilità di penetrazione attraverso le membrane lipidiche e le loro interazioni con DNA, RNA ed organuli subcellulari.



Meccanismo d'azione

- Il meccanismo d'azione si basa sull'inibizione della sintesi proteica che può avvenire o nella fase di iniziazione o in quella di elongazione – terminazione, interagiscono con la subunità 60s dei ribosomi eucariotici.
- Dei tricoteceni, quattro sono rinvenuti frequentemente negli alimenti: tossina T-2, vomitossina o deossinivalenolo, diacetossi scirpenolo e nivalenolo.



Effetti tossici

- Effetti leucopenici.
- Disturbi infiammatori ed emorragie delle membrane del tubo digerente.
- Azione immunosoppressiva.
- Effetti neurotossici: vomito e rifiuto del cibo



Fumonisine

- Scoperte nel 1986;
- Finora ne sono state isolate sei:
- Le più importanti sono: fumonisina 1, fumonisina 2 e fumonisina 3, prodotte in grosse quantità dal *Fusarium moniliforme* che ha come pianta ospite privilegiata per l'accrescimento il **mais**.
- Strutturalmente sono dei diesteri di acidi tricarbossilici contenenti anche un gruppo ammino disponibile; queste caratteristiche le rendono molto simili alle sfingosine presenti come lipidi cerebrali.

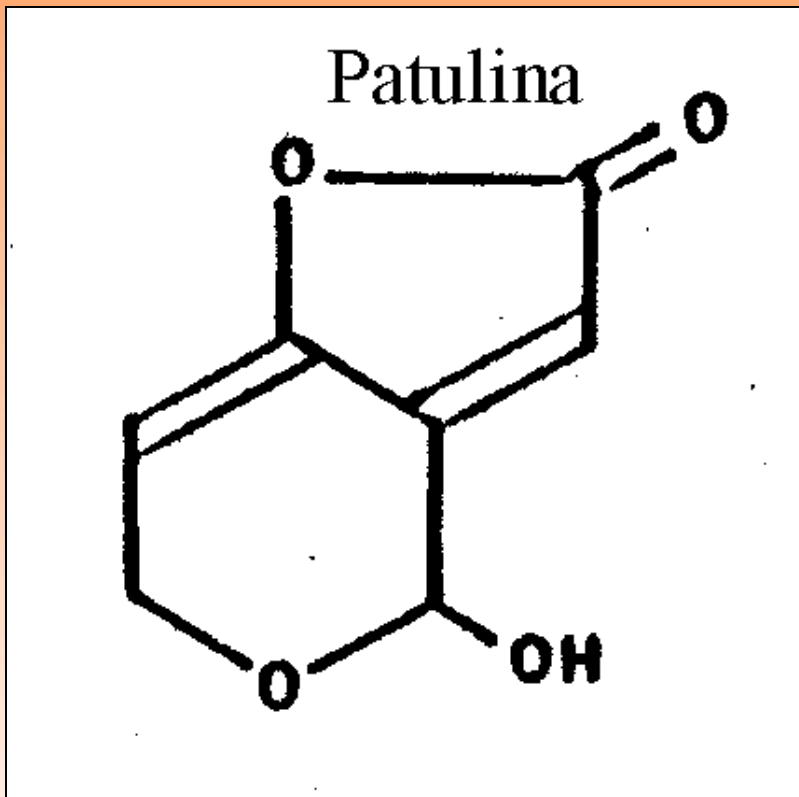


Effetti tossici

- L'ingestione e l'accumulo delle fumonisine è stato associato a patologie molto gravi negli animali, ad esempio una malattia neurotossica che comporta paralisi, edema cerebrale ed idrotorace. Le fumonisine sono inoltre causa di edema polmonare nei suini e dell'epatocarcinoma nei ratti.
- La presenza delle fumonisine nel mais è stata associata all'elevata incidenza di tumori esofagei nell'uomo, in alcune zone del Sud Africa, della Cina e del Nord-Est Italia. Il Friuli è una delle zone geografiche a più elevata incidenza in Europa di tumori all'esofago, probabilmente per l'elevato consumo di mais sotto forma di polenta.



Patulina



È un gamma-lattone insaturo, prodotto da numerose muffe ma soprattutto da *Aspergillus clavatus*, fungo della microflora dei grani, e da *Penicillium expansus* agente del marciume delle mele immagazzinate.

Effetti tossici

- Lesioni congestive a livello dei polmoni, del fegato e della milza.
- Provocano, secondariamente, una degenerazione dei neuroni della corteccia cerebrale (paralisi).



Altre Micotossine

- Citrinina
- Tossina PR
- Acido ciclopiazonico
- Micotossine tremorigene
- Citreoviridina

