

Esperienze nel monitoraggio del contenuto in Aflatossina M₁ nel latte e formaggi prodotti in Sardegna

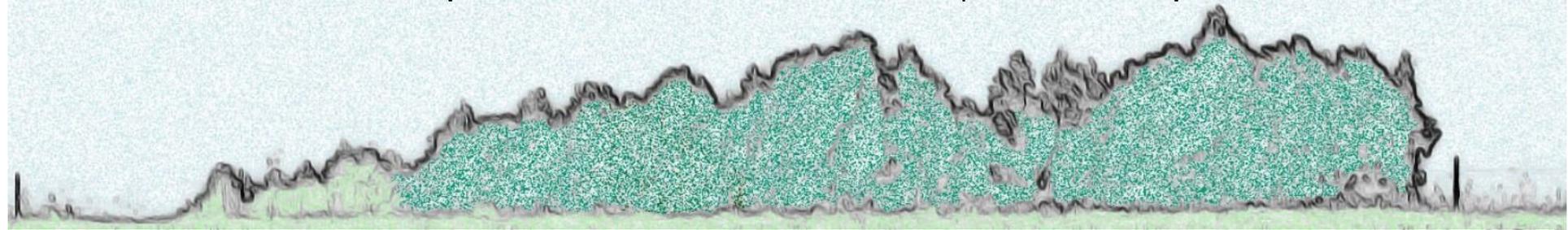
De Santis E.P.L., Scarano C., Viridis S.¹, Spanu C.

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli studi di Sassari

¹Consorzio per la tutela del Pecorino Romano DOP, Macomer (NU)



Latte di pecora: contaminazione da AFM₁ in differenti paesi



anno/i	campioni numero	paese	campioni AFM ₁ + (%)	media ±DS (ng/L)	metodo rilevazione	riferimento
2005-2006	23	Siria	13 (57%)	67±18.4°	ELISA	Ghanem and Orfi, 2009
2007	24	Pakistan	4 (16.7)	2.0±4.0*	HPLC	Hussain <i>et al.</i> , 2010
2007-2008	51	Iran	19 (37.3)	28.1±13.7°	ELISA	Rahimiet <i>al.</i> , 2010
2007-2008	814	Spagna	387 (47.5)	4,3-5,3§	ELISA	Rubio <i>et al.</i> , 2011
2008-2009	42	Iran	13 (31.0)	25.8 ±15.1°	ELISA	Rahimi and Ameri, 2012
2009	118	Italia	1 (0.8%)	5.2°	ELISA	Cossu <i>et al.</i> , 2011
2013	19	Croazia	0 (0.0%)	3.7±0.91*	ELISA	Bilandžićet <i>al.</i> , 2014

°su tutti i campioni analizzati

*su campioni in cui AFM₁ > LOD

§ mediana



AFM₁ carry over (%) nel latte in relazione alla AFB₁ ingerita

pecora: 0,25%-0,54% / 1,30-2,90%

(Bataccone et al., 2005; Firmin et al., 2011 / Bataccone et al., 2009)



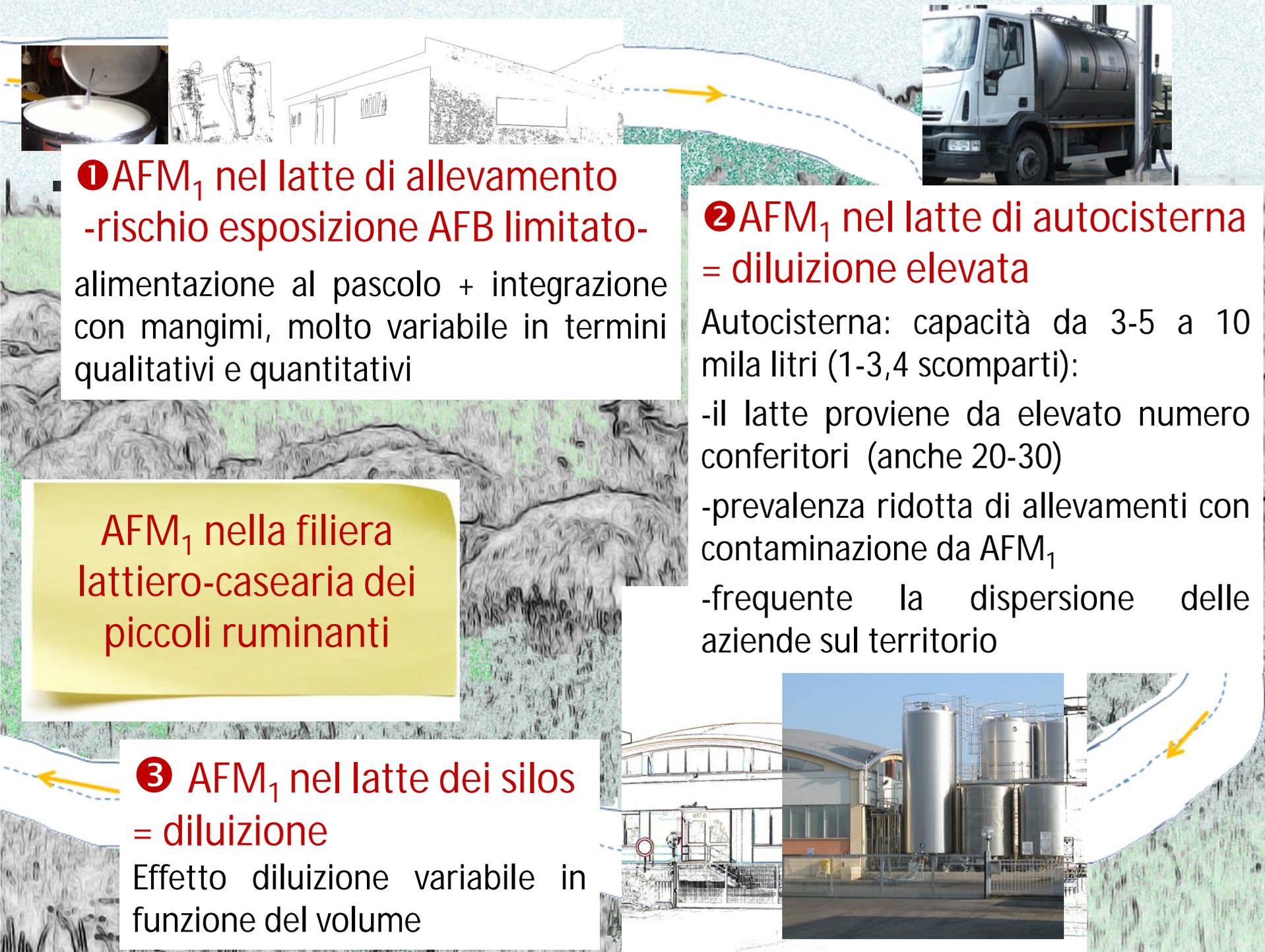
capra: 0,17%-3,1%

(Goto & Hsieh, 1985; Nageswara Rao & Chopra, 2001; Ronchi et al., 2005; Bataccone et al., 2009)



vacca: 0,32%-6,20% (Petterson H., 2004)





① AFM₁ nel latte di allevamento
- rischio esposizione AFB limitato-

alimentazione al pascolo + integrazione con mangimi, molto variabile in termini qualitativi e quantitativi

AFM₁ nella filiera lattiero-casearia dei piccoli ruminanti

③ AFM₁ nel latte dei silos
= diluizione

Effetto diluizione variabile in funzione del volume

② AFM₁ nel latte di autocisterna
= diluizione elevata

Autocisterna: capacità da 3-5 a 10 mila litri (1-3,4 scomparti):

-il latte proviene da elevato numero conferitori (anche 20-30)

-prevalenza ridotta di allevamenti con contaminazione da AFM₁

-frequente la dispersione delle aziende sul territorio

④ Trattamento termico

concentrazione AFM_1 non modificata
(Punto di fusione AFM_1 299°C)

AFM_1 nella filiera
lattiero-casearia dei
piccoli ruminanti

⑤ Caseificazione

affinità AFM_1 verso caseine:
le AFM_1 si concentrano nella
cagliata (circa 3-4 volte)

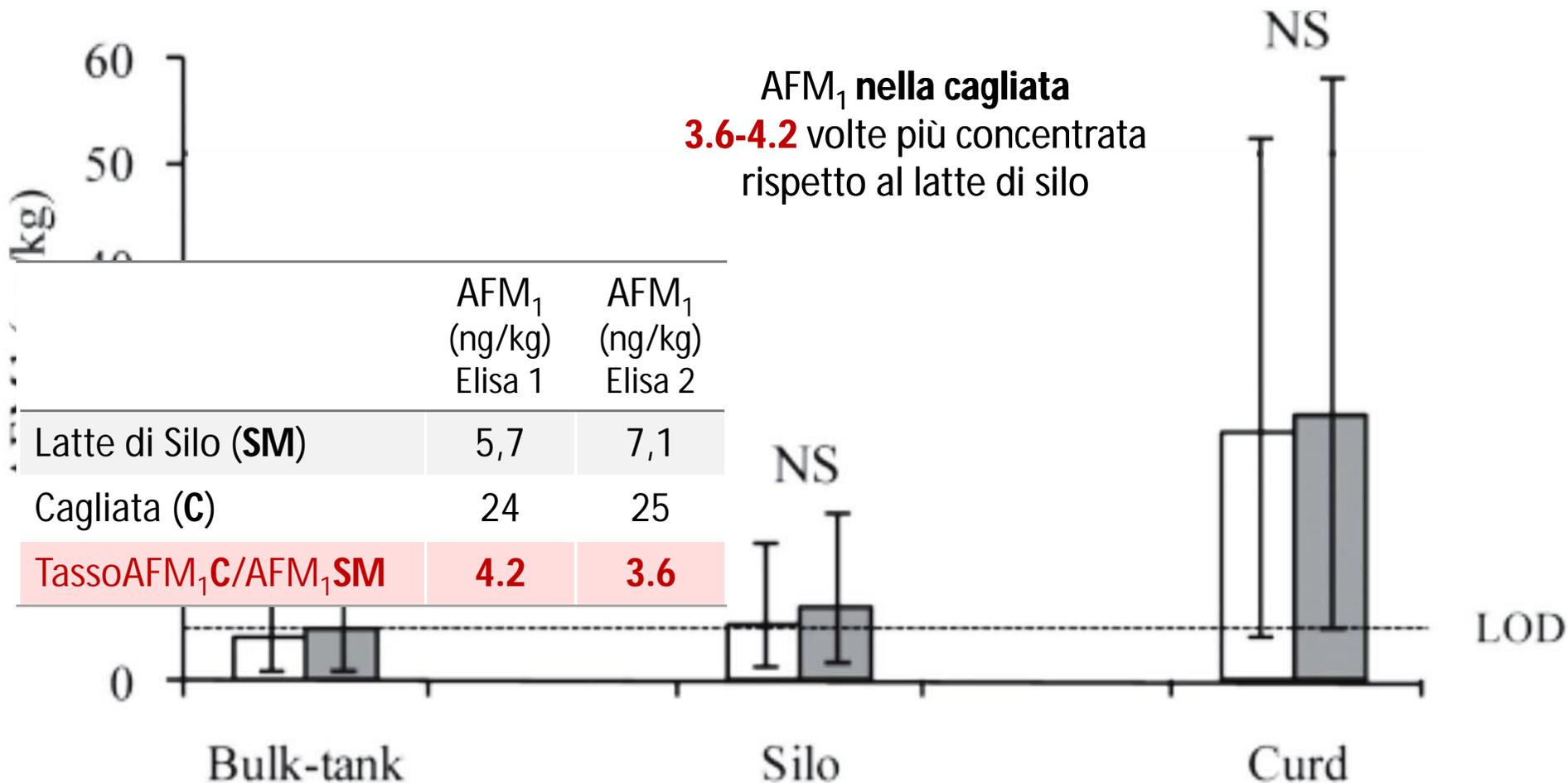
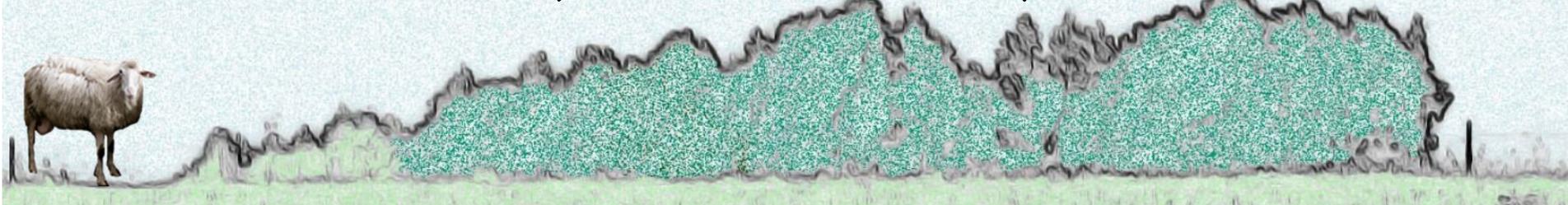
⑥ Stagionatura

Ulteriore concentrazione AFM_1 per riduzione
del contenuto in acqua nel formaggio

Proteolisi: maggiore recupero AFM_1 .



Concentrazione AFM₁ (mediana) nel latte di pecora (di allevamento e silo) e nella cagliata (2 differenti metodiche ELISA)



Latte di pecora, cagliata e formaggio stagionato: concentrazione AFM₁

	AFM ₁	fattore di concentrazione AFM ₁ rispetto latte
latte	135,85°	-
cagliata	375,05*	2,76
formaggio stagionatura 5 mesi	600,75*	4,42

°ng/L *ng/kg

Elaborazione su dati di
Rubio et al., 2011

Contesto legislativo



Parere del Ministero della Salute del 3 luglio 2013 e modifica del 17 luglio 2013

Aflatossina M1 nel latte e prodotti lattiero-caseari.

Applicabilità dei coefficienti di trasformazione in equivalente latte

Il coefficiente di trasformazione che dovrebbe essere applicato per valutare se il latte crudo rispetta i requisiti della CE

Formaggi molli e prodotti a base di siero **3**

- Equivalente ad un livello di concentrazione di AFM_1 ammissibile nel formaggio di 150 ng/kg

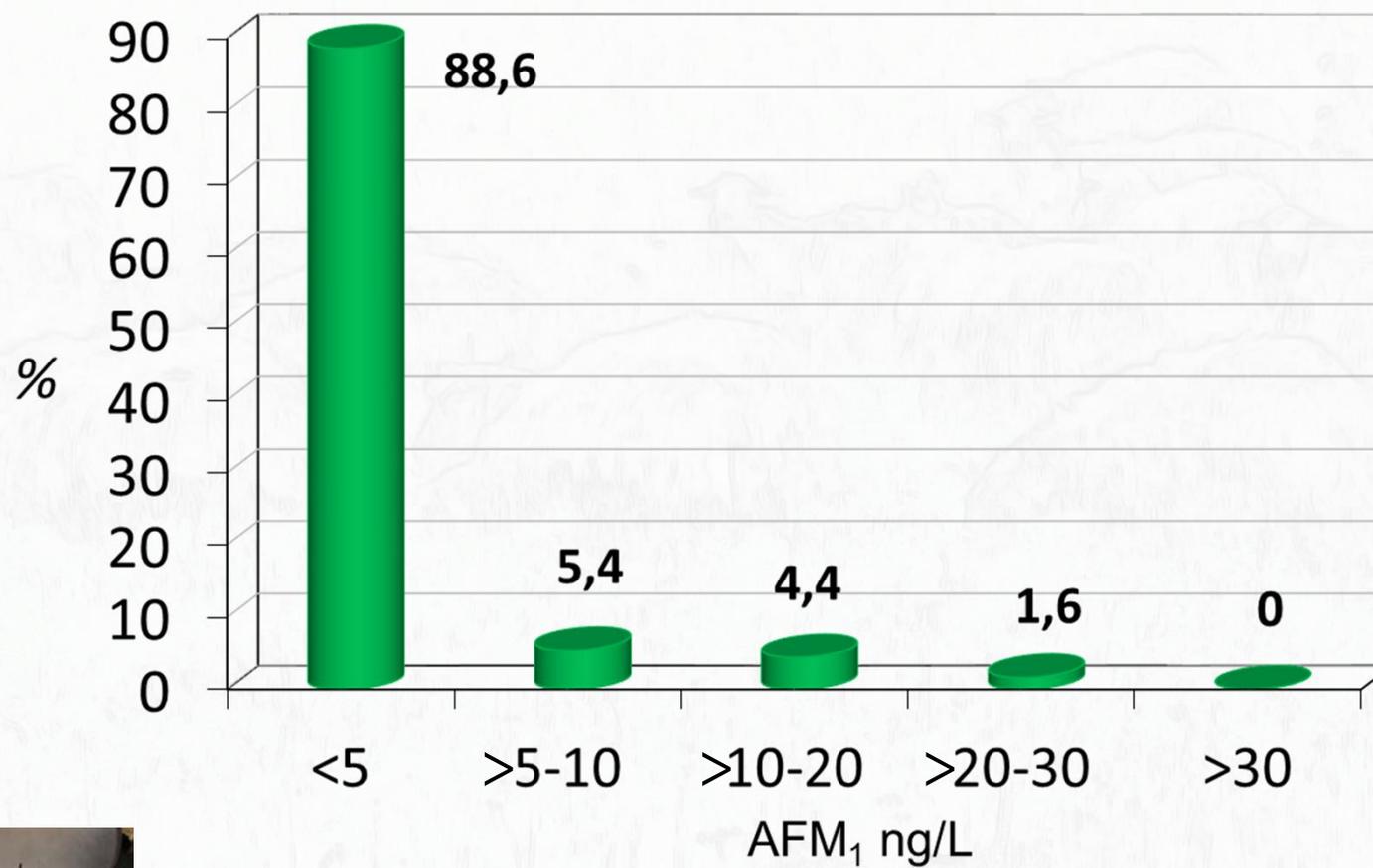
Formaggi duri **5,5**

- Equivalente ad un livello di concentrazione di AFM_1 ammissibile nel formaggio di 275 ng/kg



Monitoraggio delle contaminazioni da AFM_1
nel latte di pecora in Sardegna

Campioni di latte di pecora di allevamento (n.317)
distribuzione % in relazione al contenuto in **AFM₁**

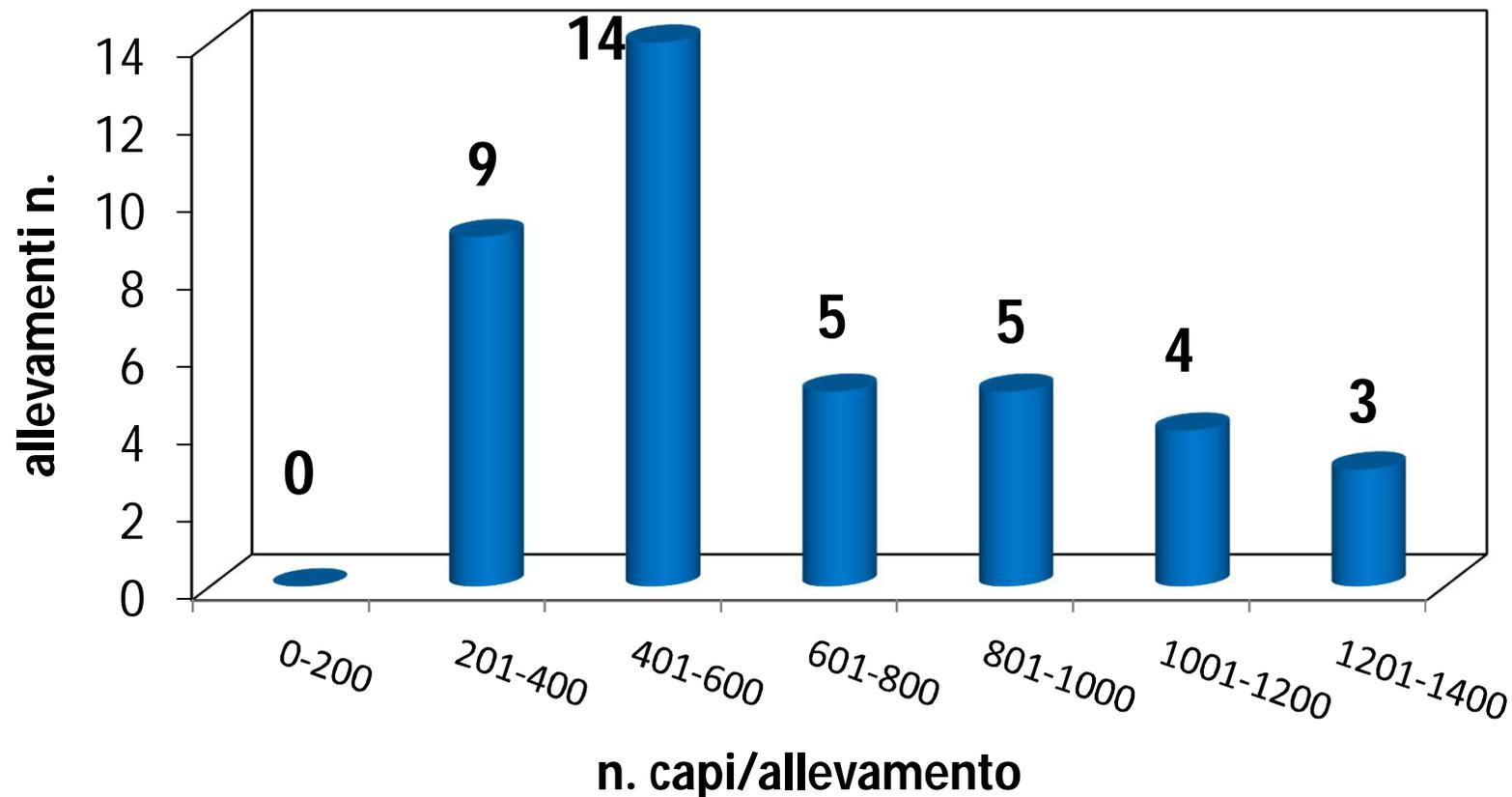


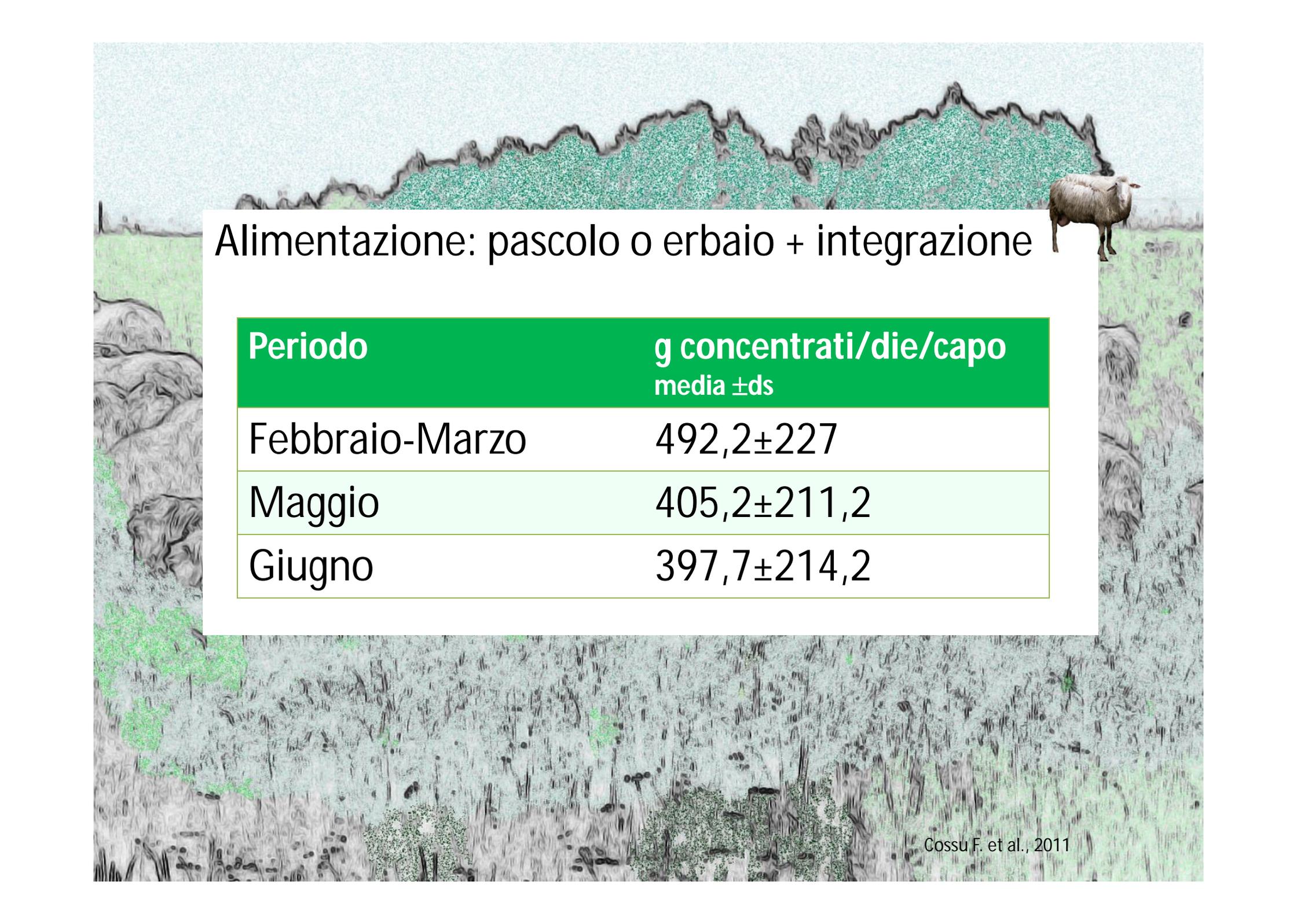
Aziende con elevato livello di integrazione con mangimi e potenziale rischio maggiore esposizione alle AFs

- n. 40 aziende x 3 campionamenti nel corso della lattazione
- Superficie media $80,3 \pm 48,0$ ha
- Numero capi $678 \pm 325,7$



Distribuzione allevamenti per consistenza capi

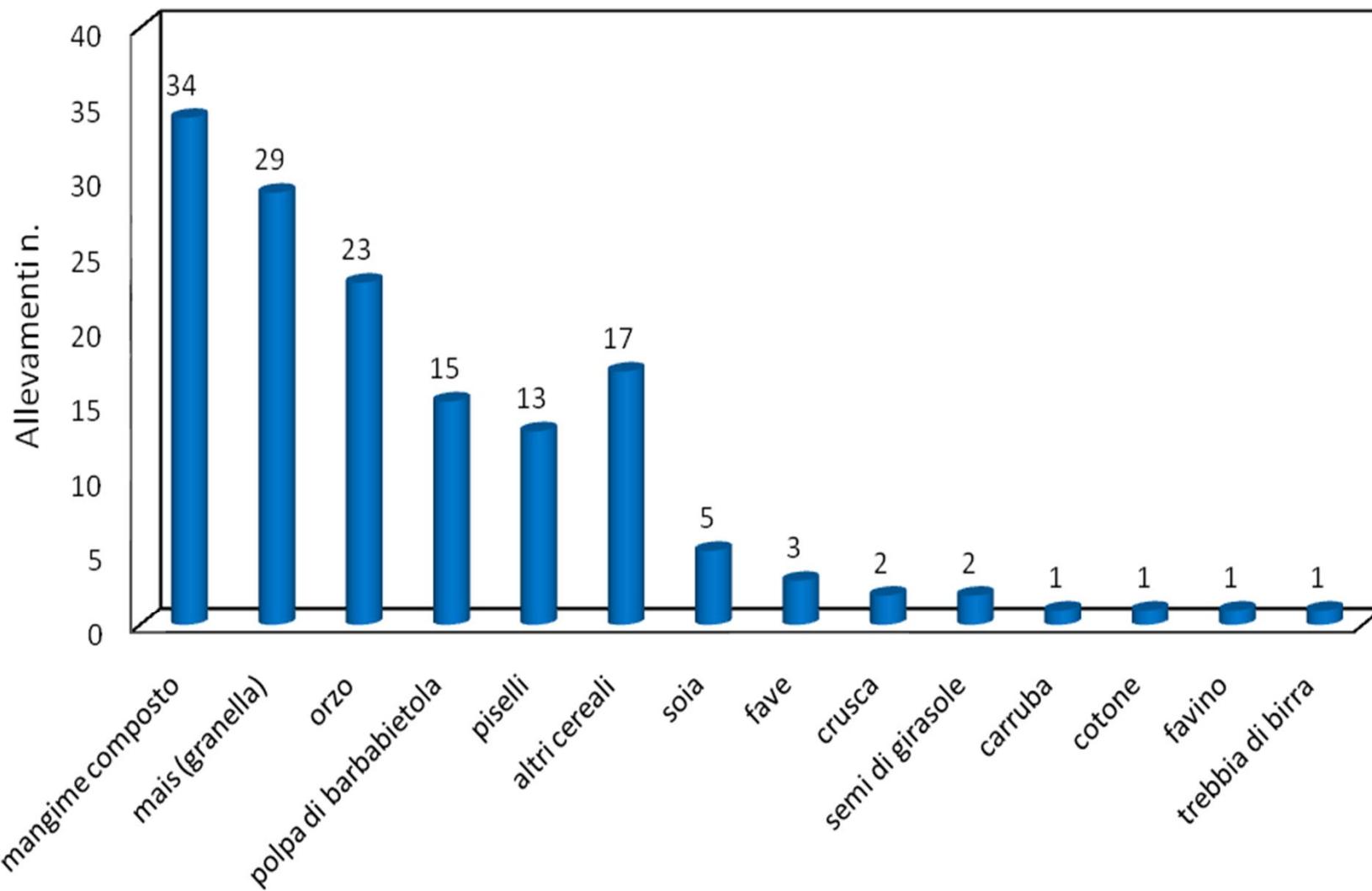




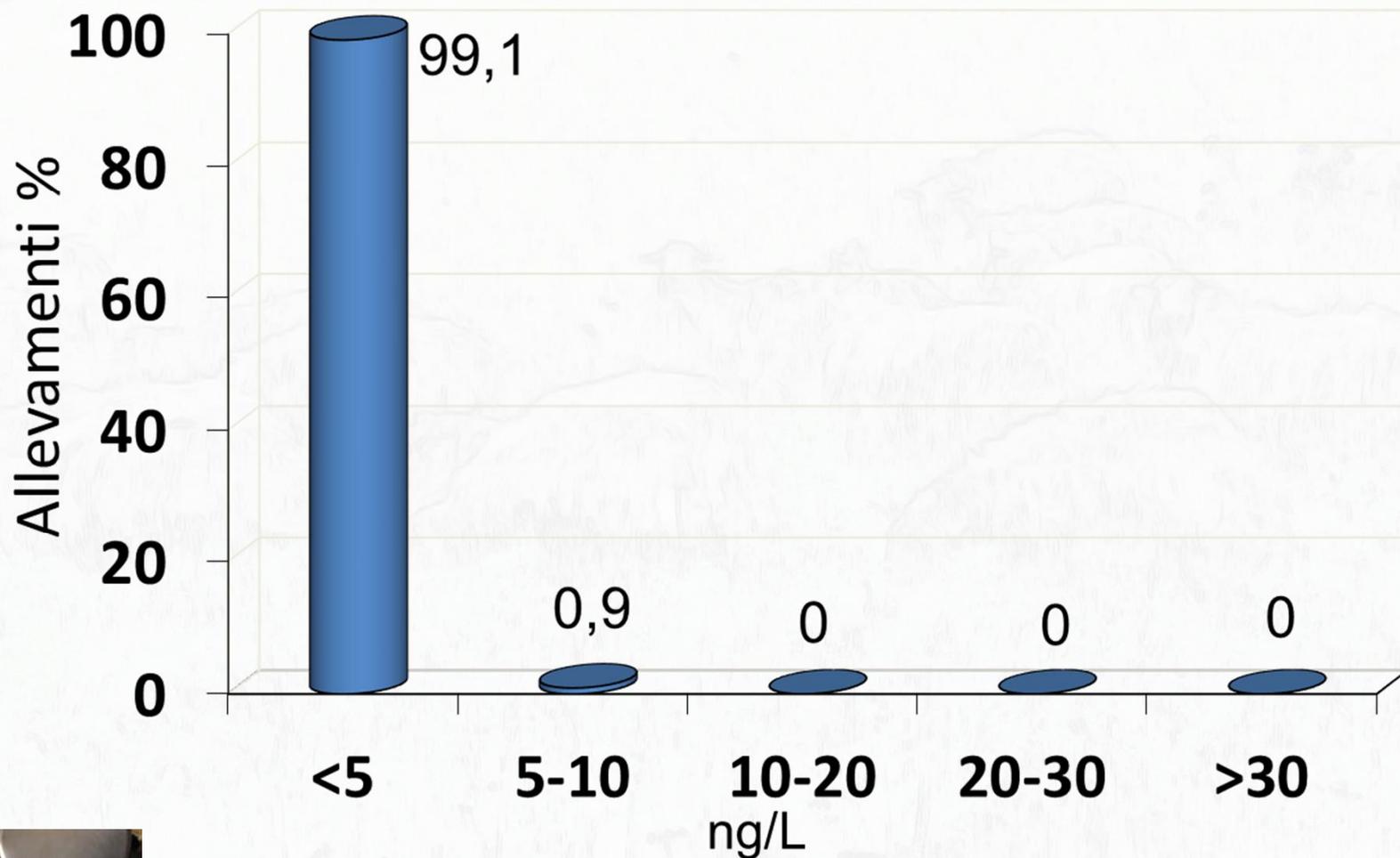
Alimentazione: pascolo o erbaio + integrazione

Periodo	g concentrati/die/capo media \pm ds
Febbraio-Marzo	492,2 \pm 227
Maggio	405,2 \pm 211,2
Giugno	397,7 \pm 214,2

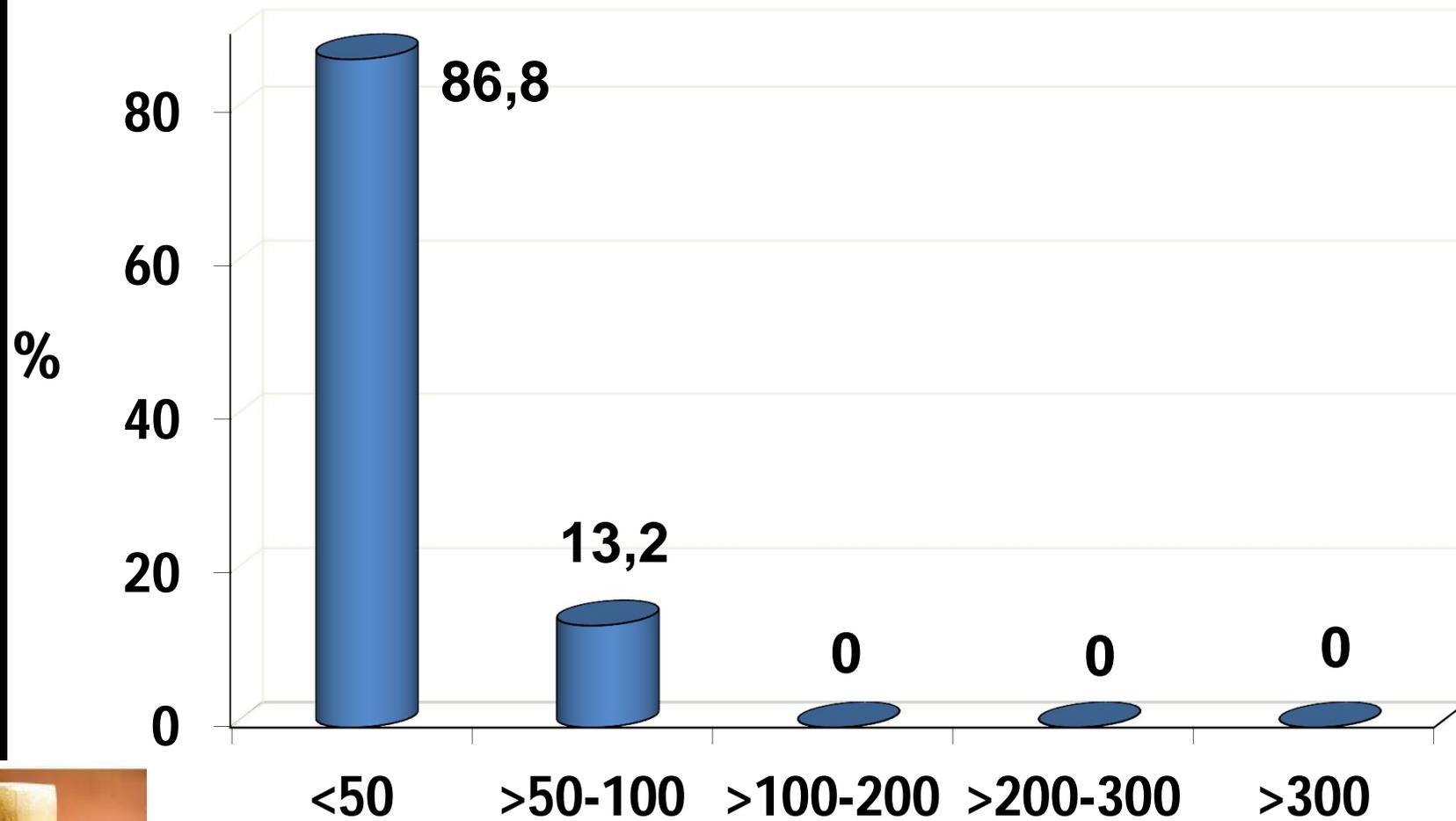
Frequenza dell'utilizzazione di differenti alimenti zootecnici negli allevamenti (n. 40)



Latte di allevamenti ovis (n.118 campioni),
distribuzione % in relazione al contenuto in AFM₁ (ELISA)



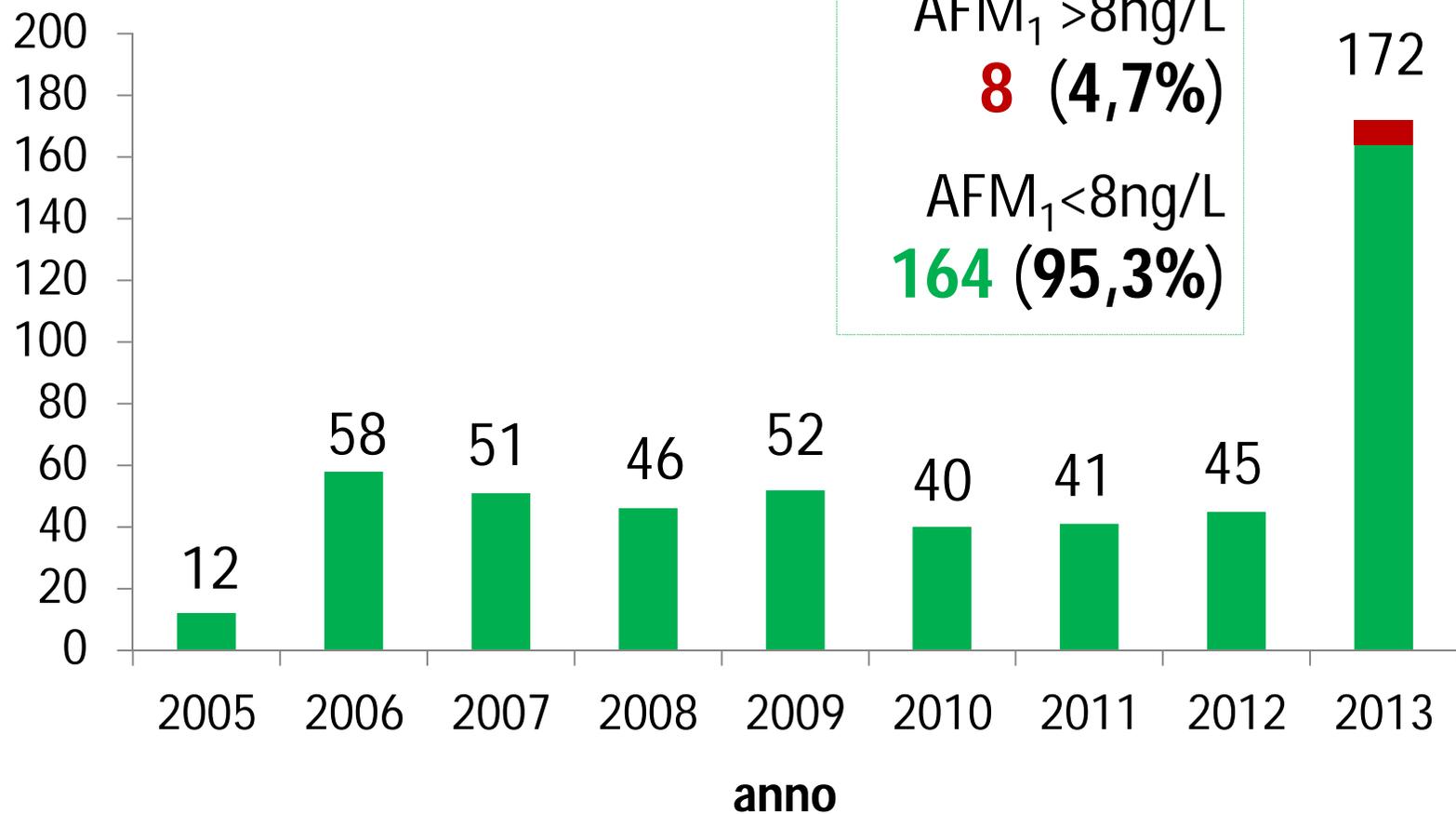
Formaggio ovino (n.38 campioni), distribuzione % in relazione al contenuto in AFM₁ (ELISA)



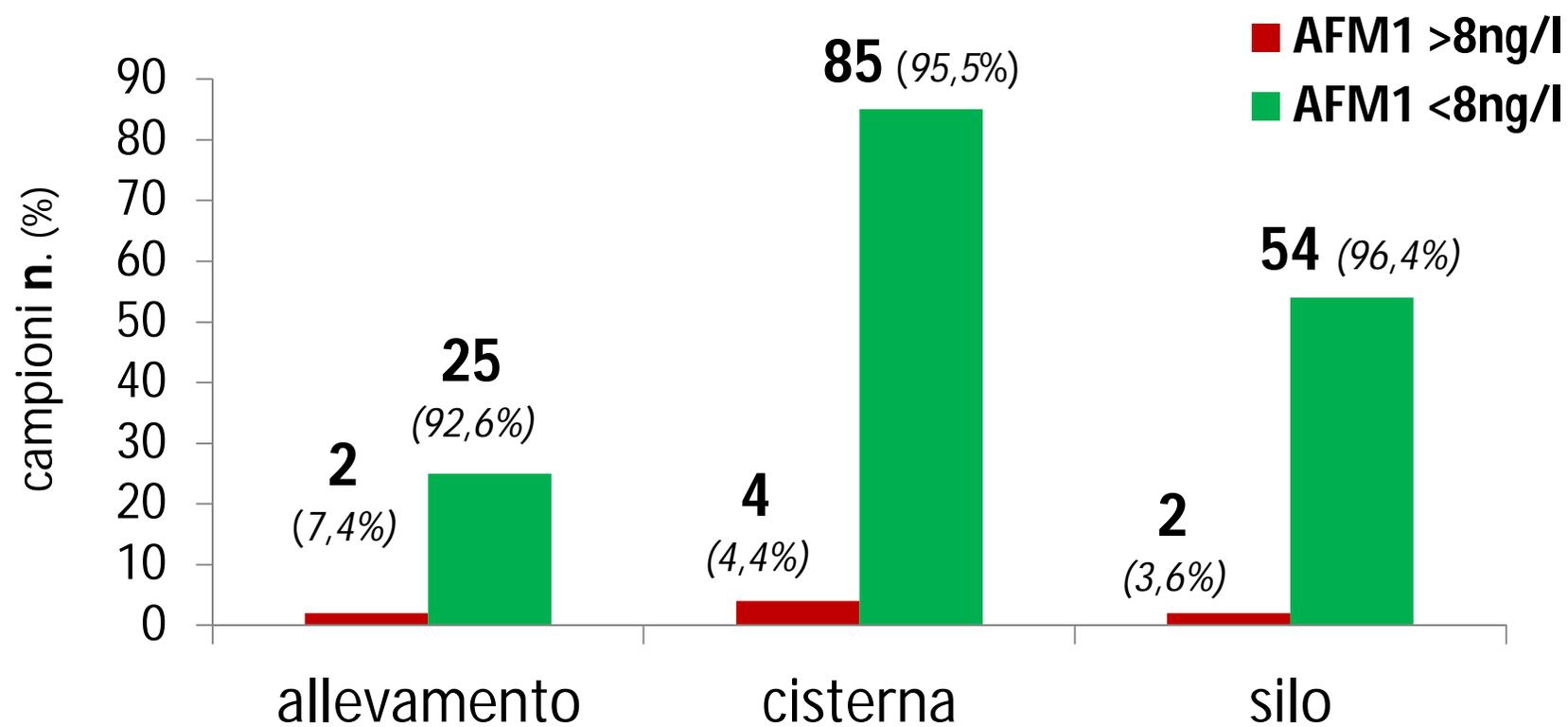
Latte di pecora: n. campioni analizzati (HPLC) in autocontrollo per AFM₁ presso Laboratorio ARA Sardegna (2005-2013) in evidenza campioni con AFM₁ >LOD(8ng/L)



numero campioni analizzati
con AFM₁ >LOD(8ng/L)

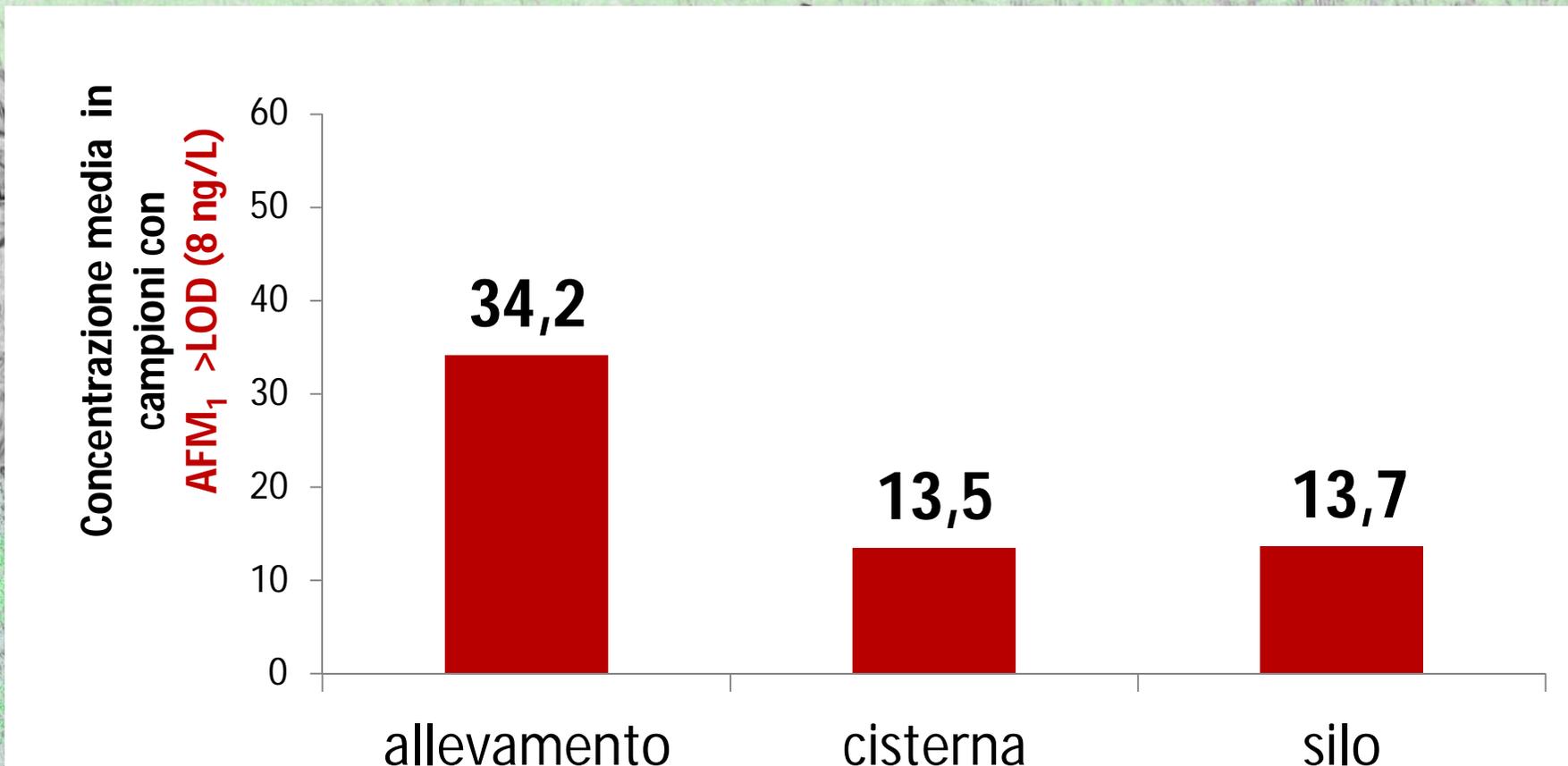
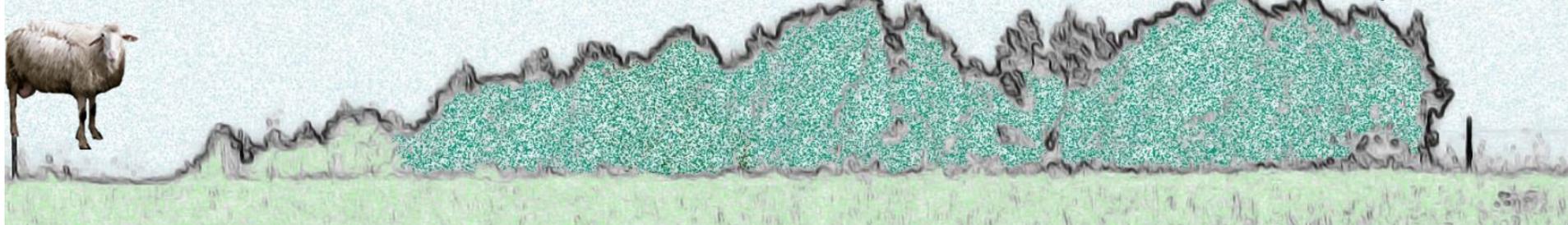


Latte di pecora: n. campioni analizzati (HPLC) in autocontrollo per AFM₁ presso Laboratorio ARA Sardegna, per tipologia (2013)



Viridis S. et al.,
in stampa

AFM₁ (ng/L) in latte ovino di allevamento, autocisterna e silo con AFM₁ >LOD (8 ng/L)
campioni analizzati (HPLC) in autocontrollo per AFM₁ presso Laboratorio ARA Sardegna(2013)

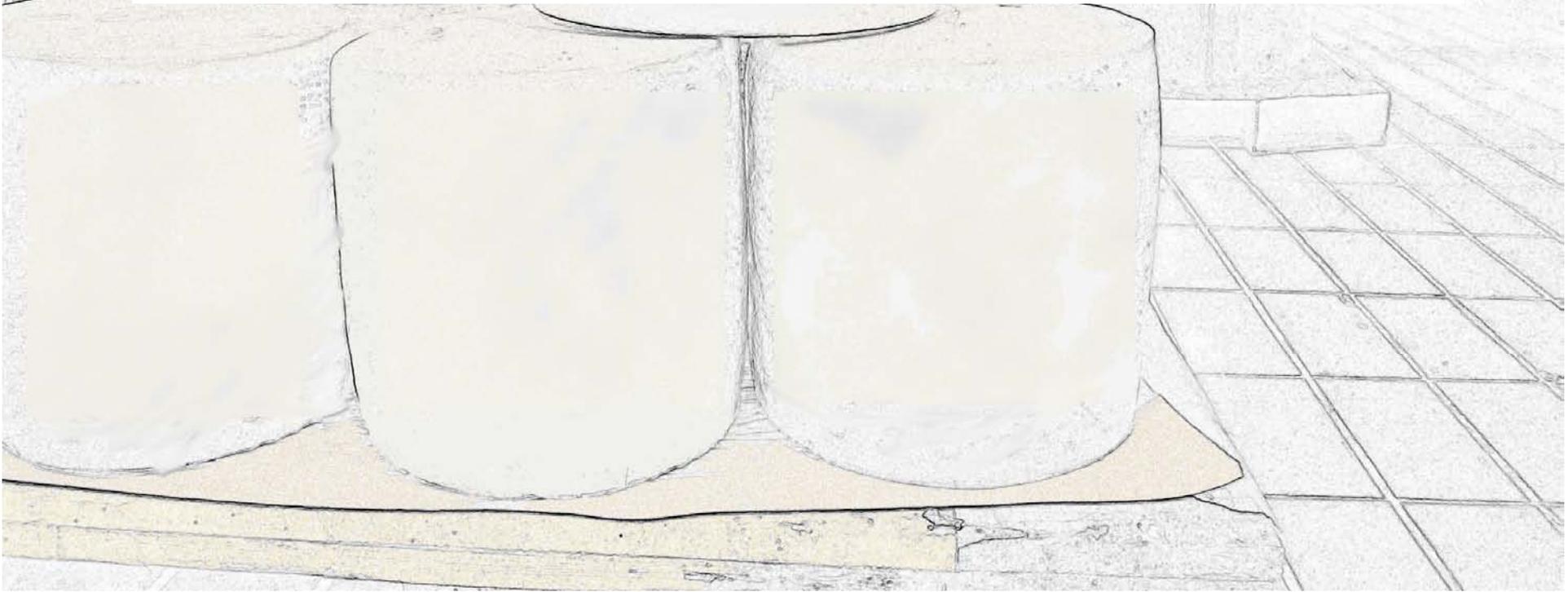


Viridis S. et al., in stampa





AFM₁ nel formaggio di pecora in Sardegna



Contaminazione da AFM₁ in formaggi venduti in Italia (2010)

Distribuzione % di 102 campioni di formaggio in relazione alla specie animale ed al contenuto in AFM₁

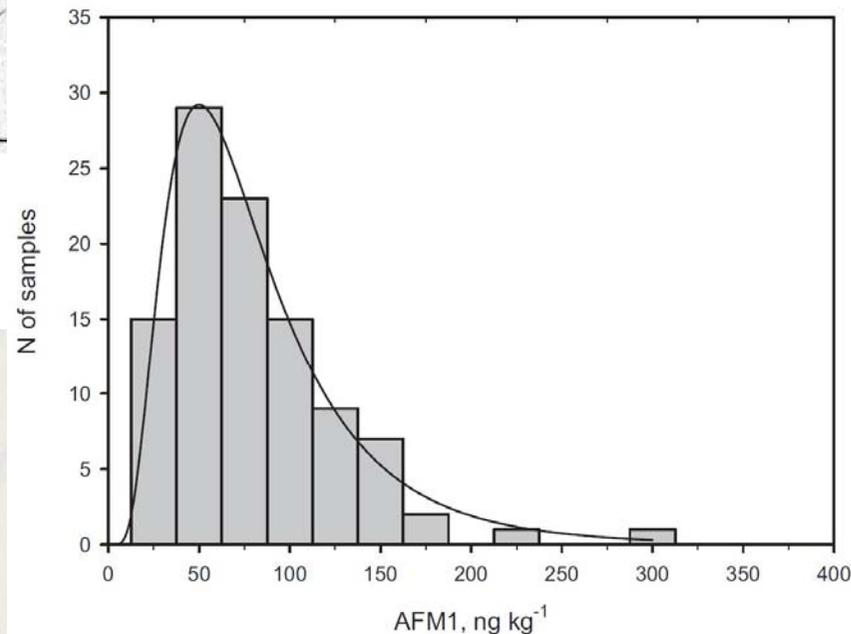
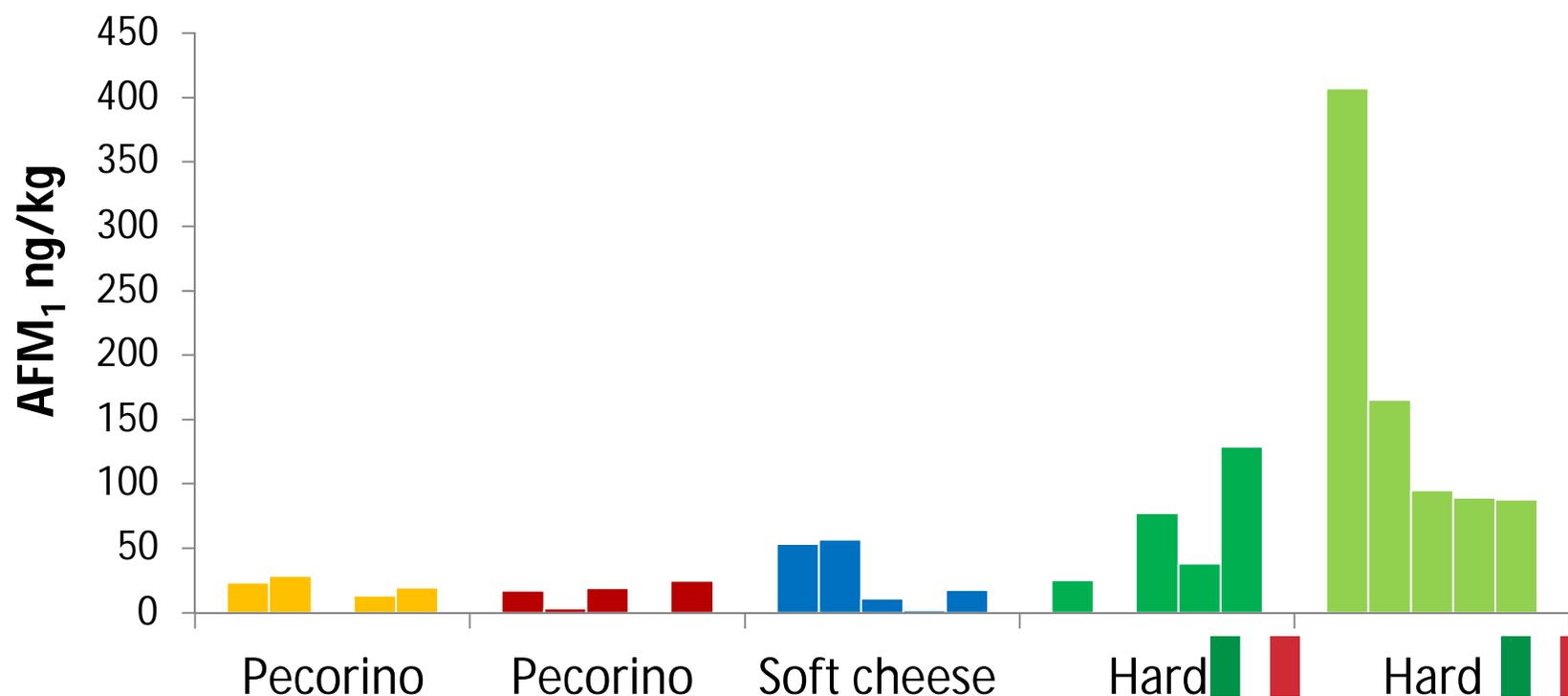


Fig. 1. Distribution of 102 analysed samples between levels of AFM₁ contamination. Data was interpolated by a 3-parameter log-normal equation (solid line), $r^2 = 0.9918$.

Latte per specie animale	Campioni n.	AFM ₁ (ng/kg ⁻¹) - Distribuzione % campioni			
		<50	50–150	150–250	>250
vacca	82	39.0	56.1	3.7	1.2
pecora	6	50.0	50.0	0.0	0.0
capra	6	83.3	16.7	0.0	0.0
bufala	3	33.3	66.7	0.0	0.0
miscela	5	60.0	40.0	0.0	0.0

AFM₁ nei formaggi di pecora e di vacca (ng/kg) (5 campioni per tipologia di formaggio)



Pecorino Sardo PDO



Pecorino Romano PDO



Soft cheese



Hard cheese 1



Hard cheese 2



AFM₁ ng/kg
concentrazione media

17

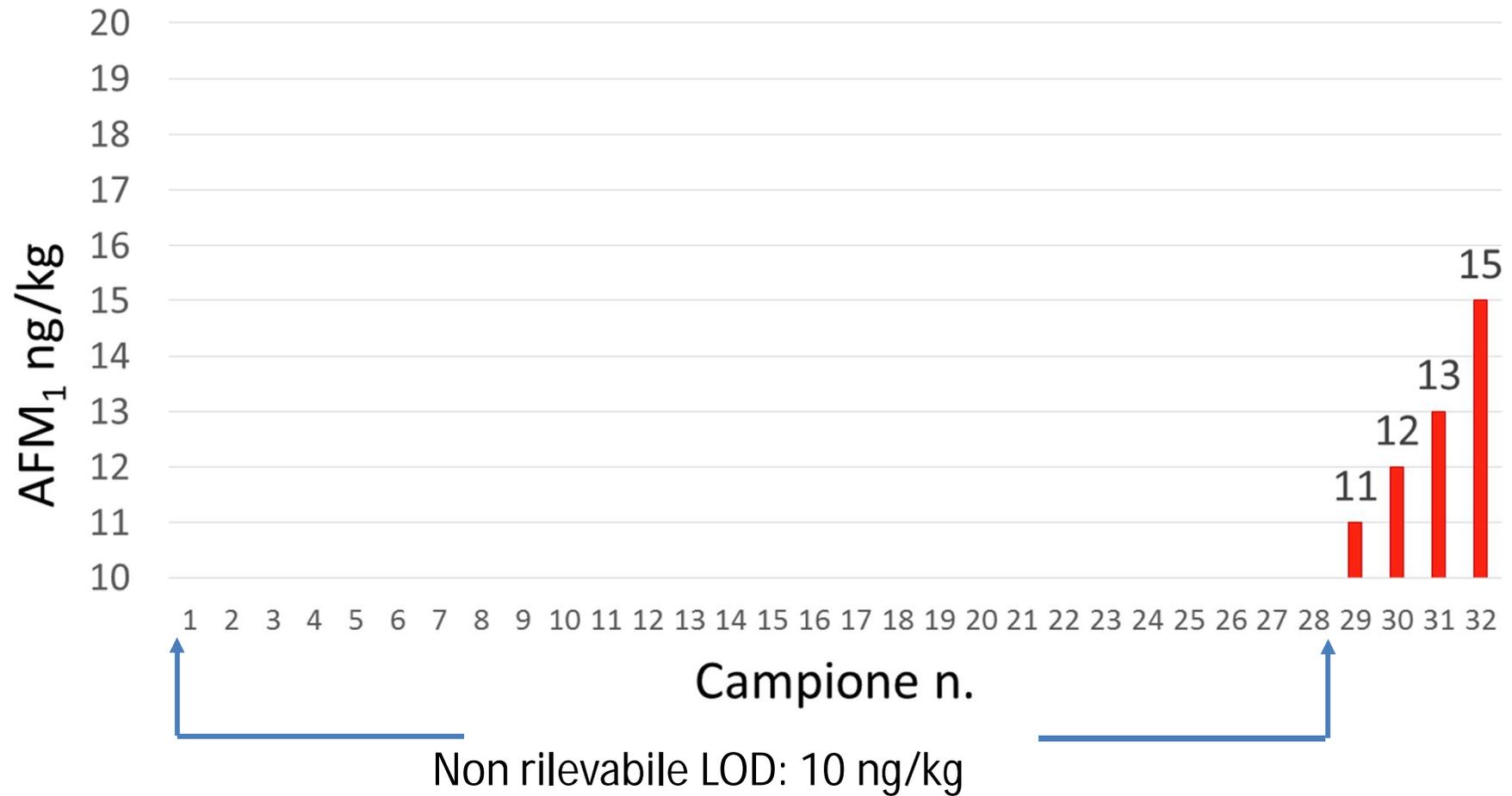
13

28

54

169

AFM₁ in campioni di Pecorino Romano DOP (ng/kg) - (32 campioni)

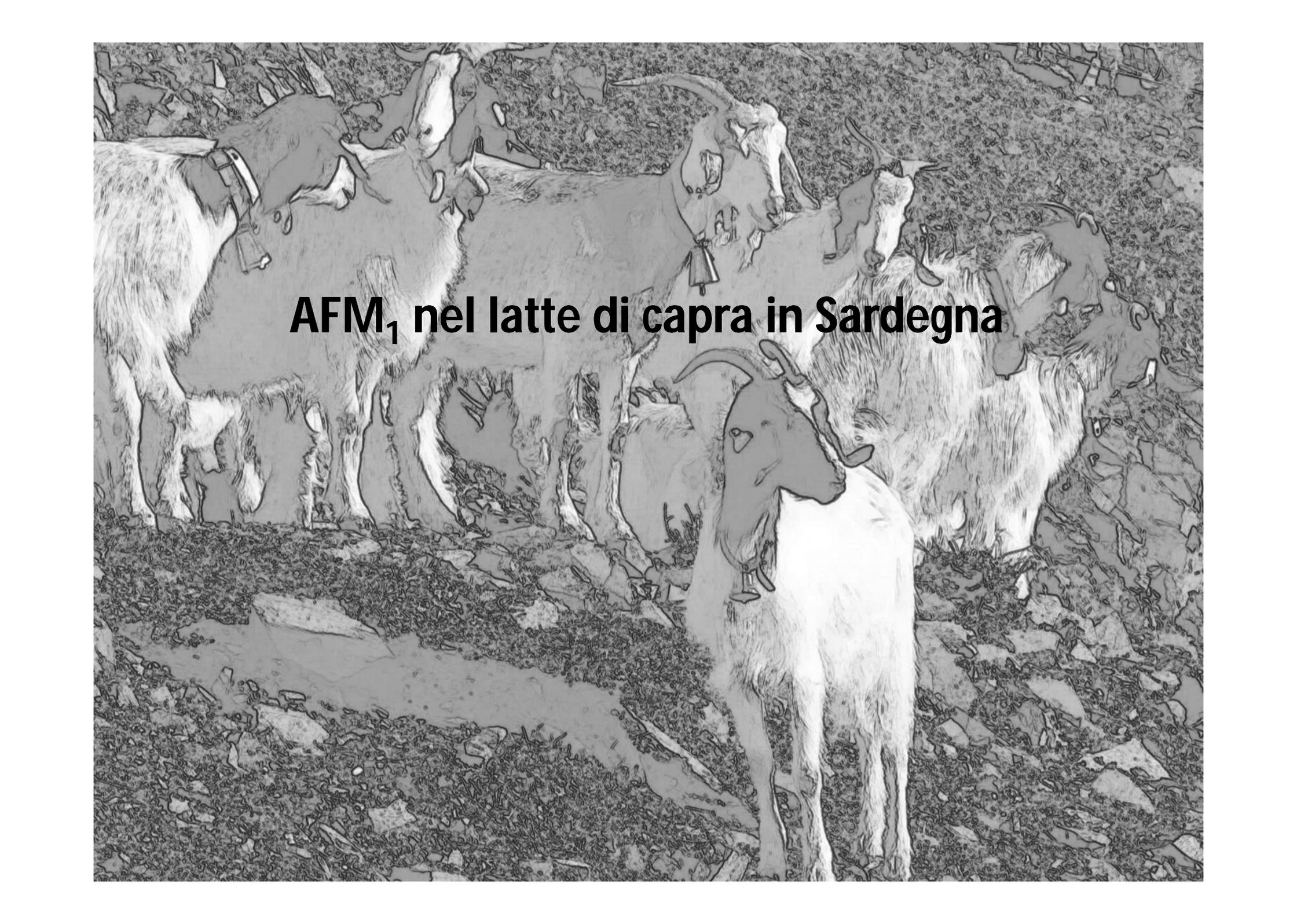


Risultati preliminari progetto finanziato da **Consorzio di Tutela del Pecorino Romano DOP**
"Studio dei livelli di contaminazione da aflatossina M₁ nel Pecorino Romano e confronto
con altri formaggi a lunga maturazione" Analisi in HPLC-FL, laboratorio ARAS



Consorzio per la tutela
del formaggio Pecorino Romano



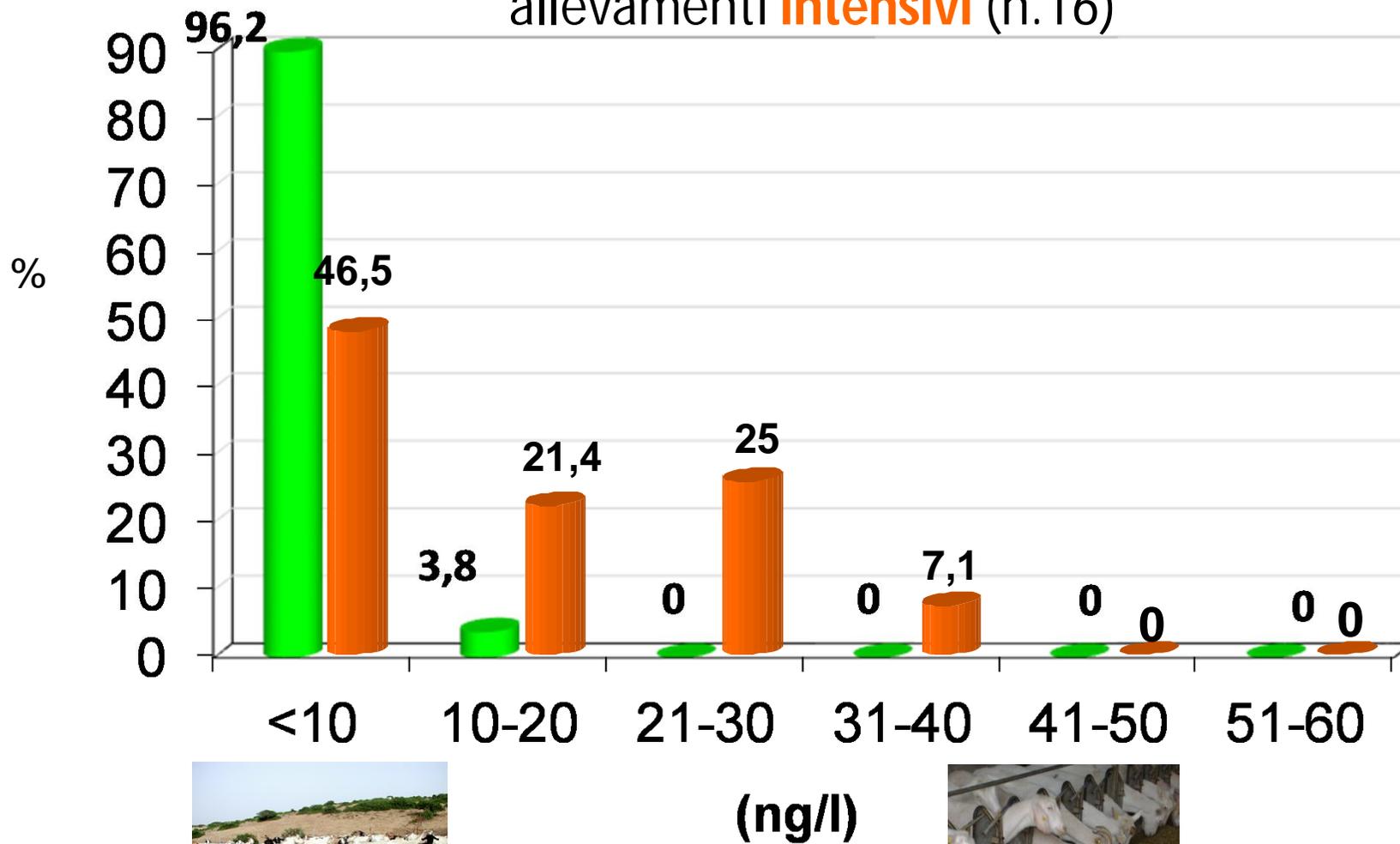


AFM₁ nel latte di capra in Sardegna

AFM₁ nel latte di capra di allevamento: distribuzione % di campioni prelevati da

allevamenti **estensivi** (n.92)

allevamenti **intensivi** (n.16)



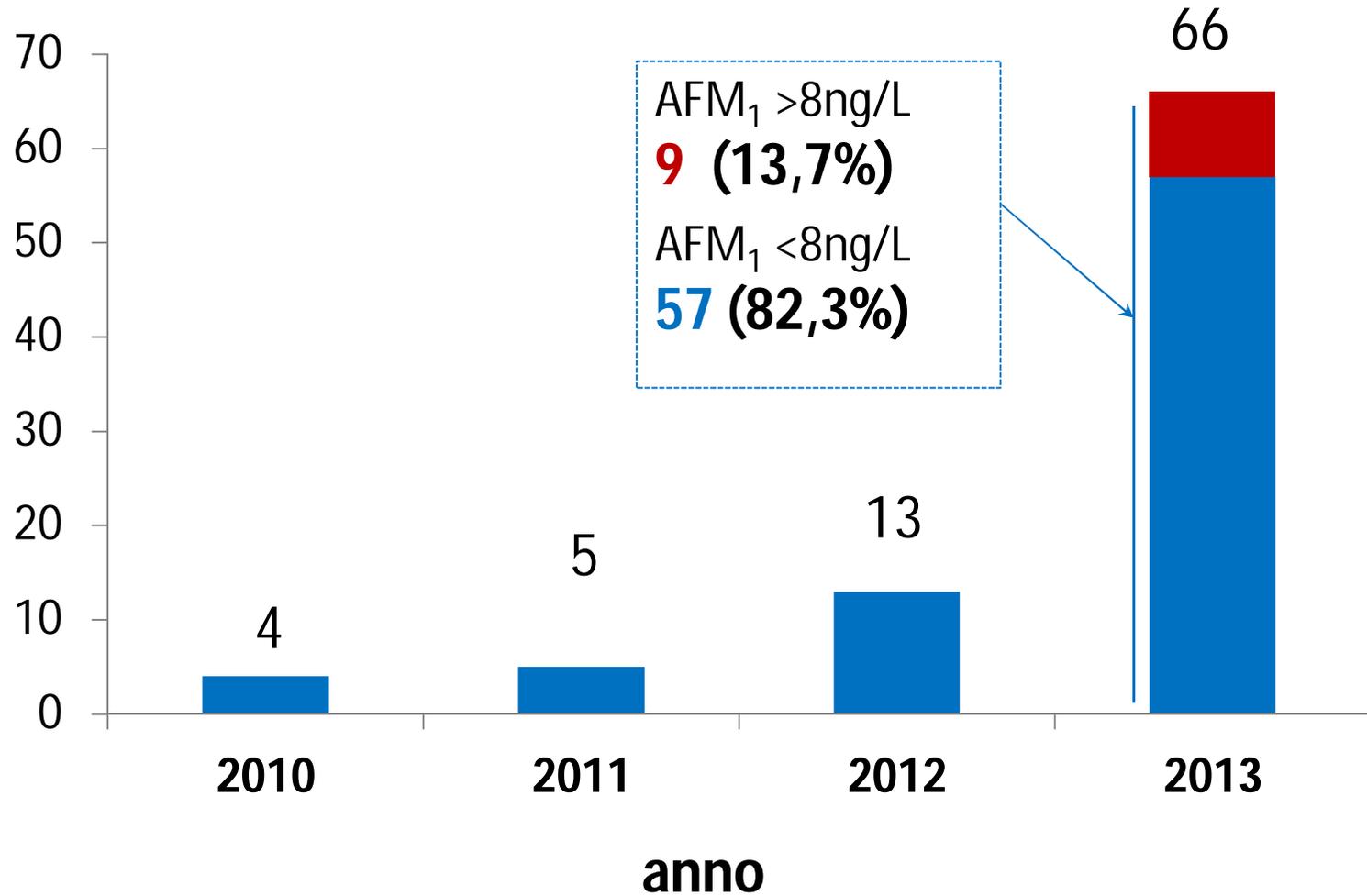
estensivo



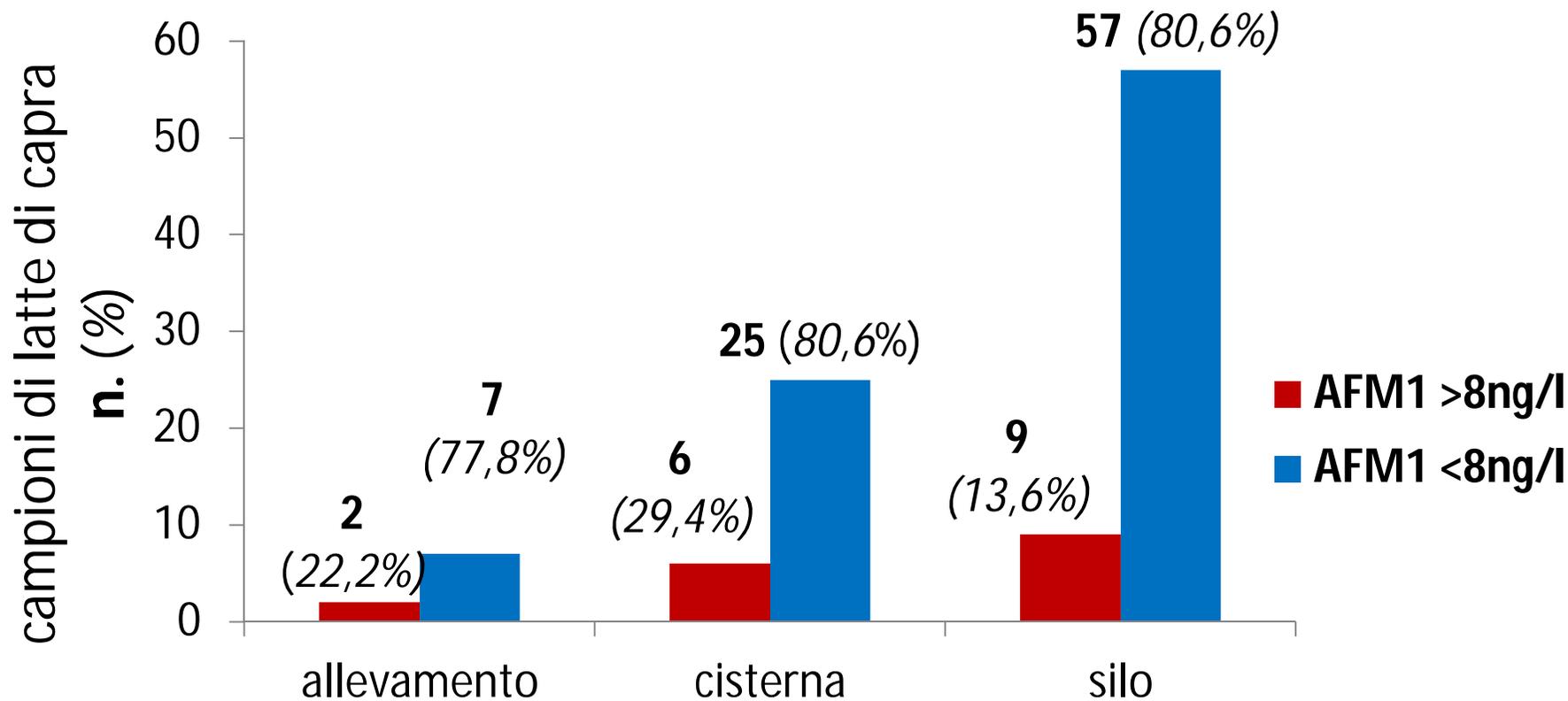
intensivo

Latte di capra: totale campioni analizzati in autocontrollo per AFM₁ in Sardegna (2010-2013) - in evidenza i campioni con livelli >LOD(8ng/L)

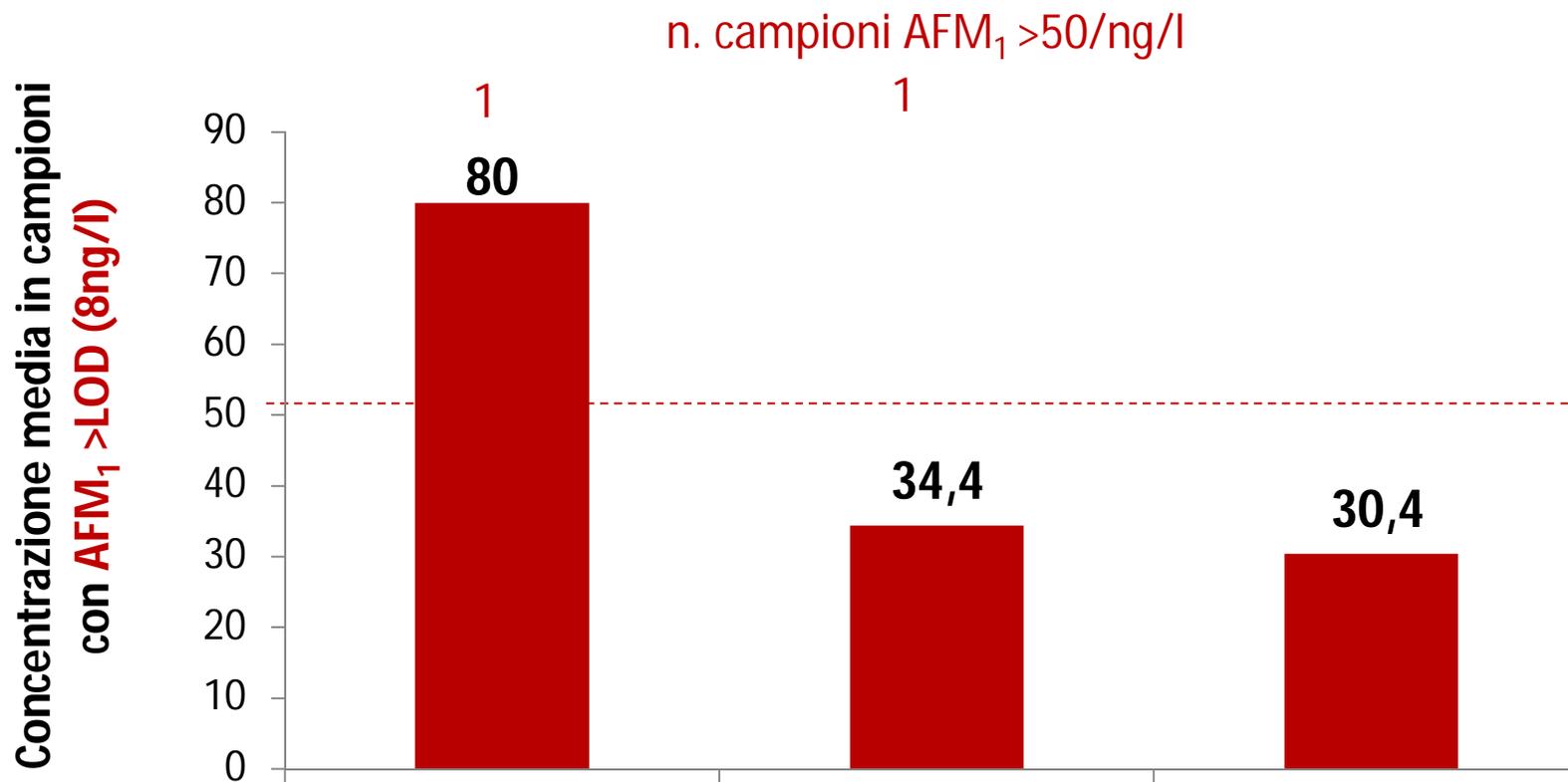
numero campioni di latte di capra analizzati e con AFM₁ >LOD(8ng/L)



Campioni di latte di capra per tipologia, analizzati in autocontrollo per AFM₁ in Sardegna 2013



Concentrazione media AFM₁ nei campioni di latte caprino di allevamento, autocisterna e silo con AFM₁ > LOD (8 ng/L) (2013)



AFM₁ > LOD



allevamento

n=2



cisterna

n=6



silo

n=9



Monitoraggio AFM₁ nel latte di piccoli ruminanti in Sardegna, situazione attuale e prospettive



Aflatossine nella filiera del latte dei piccoli ruminanti il contesto-1

- mangimi mercato globale / frammentazione acquisto locale
- gestione complessa della rintracciabilità dei mangimi
- esigenza di incrementare dati disponibili per:
 - monitoraggio (conformità limiti ammissibili)
 - sorveglianza (possibili crisi anche per mangimi di produzione nazionale)

Aflatossine nella filiera del latte dei piccoli ruminanti il contesto-2

- elevato numero di aziende di piccoli ruminanti (circa 15.000) su cui attuare prevenzione, formazione, analisi in autocontrollo e controllo ufficiale
- elevata diluizione della contaminazione del latte nelle fasi di raccolta con autocisterne/stoccaggio caseificio
- sostenibilità dei costi delle analisi in autocontrollo
[2014: adozione dei test di screening nel laboratorio ARAS e impiego dell'HPLC per coferma]

Aflatossine nella filiera del latte dei piccoli ruminanti opportunità

- Frequenza/livello medio di contaminazione da AFM₁ nel latte di piccoli ruminanti
- Valutazione del rischio: possibile un programma di campionamenti ed analisi economicamente sostenibile
- I caseifici attraverso la realizzazione di un programma organico di controlli analitici per le AFM₁ nel latte, possono contribuire a raccogliere dati che integrano il monitoraggio effettuato sugli alimenti zootecnici
- Interventi sulla filiera da parte dell'Assistenza Tecnica e dell'Autorità Competente in seguito a non conformità per AFM₁: possibile elevata efficacia e rapida risoluzione

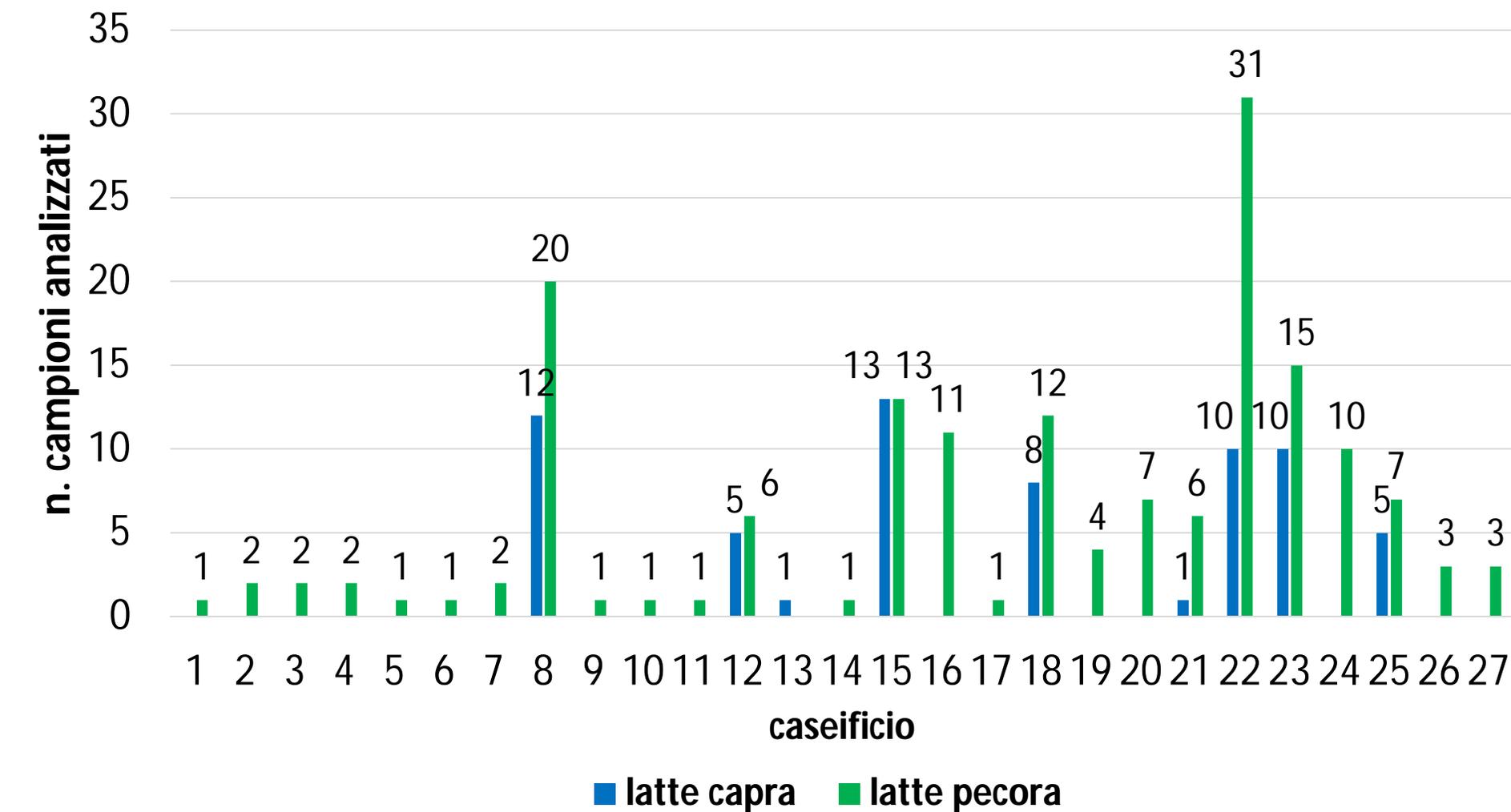
Monitoraggio delle Aflatossine nel latte dei piccoli ruminanti situazione attuale

Le analisi per la ricerca di AFM₁ nel latte dei piccoli ruminanti effettuate annualmente dal Laboratorio ARA della Sardegna sono in numero limitato. I dati sembrano indicare* che:

- i caseifici che effettuano la ricerca di AFM₁ in autocontrollo sono in numero contenuto
- I caseifici spesso effettuano il monitoraggio su un ridotto numero di campioni, in alcuni casi 1/anno/caseificio (2013-latte pecora n.172 campioni e latte capra n.66 campioni)
- la contaminazione da AFM₁ è stata rilevata nel latte di pecora (4,7%) e di capra (13,7%) nel 2013 (effetto trascinamento crisi 2012, ma in coincidenza di un incremento nel numero di campioni analizzato per AFM₁)

*non sono disponibili dati sul numero di analisi in autocontrollo effettuate presso laboratori interni degli stabilimenti o altri laboratori autorizzati

Latte di pecora e di capra: numero campioni analizzati in autocontrollo per AFM₁ presso laboratorio ARA Sardegna per stabilimento (2014)





Interventi del Controllo ufficiale

REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

Piano regionale di sorveglianza per prevenire e gestire il rischio di contaminazione da aflatossine nel latte e filiera del latte (2013)



PIANO DI CONTROLLO PER LA PREVENZIONE E GESTIONE DEL RISCHIO AFLATOSSINE NEL MAIS, DESTINATO ALL'ALIMENTAZIONE UMANA E ANIMALE, E NELLA FILIERA LATTIERO CASEARIA.
- ANNO 2013-

Asl	Numero aziende ovi- caprine attive *	Numero aziende da sottoporre a campionamento (extrapiano residui anno 2013)
Asl	Numero stabilimenti di trasformazione da sottoporre a campionamento nell'anno 2013 (Extrapiano alimenti)	38
		17
		37
Asl 1	6	10
Asl 2	2	34
Asl 3	7	11
Asl 4	2	10
Asl 5	5	29
Asl 6	2	187
Asl 7	2	
Asl 8	3	
Totale Sardegna	29	

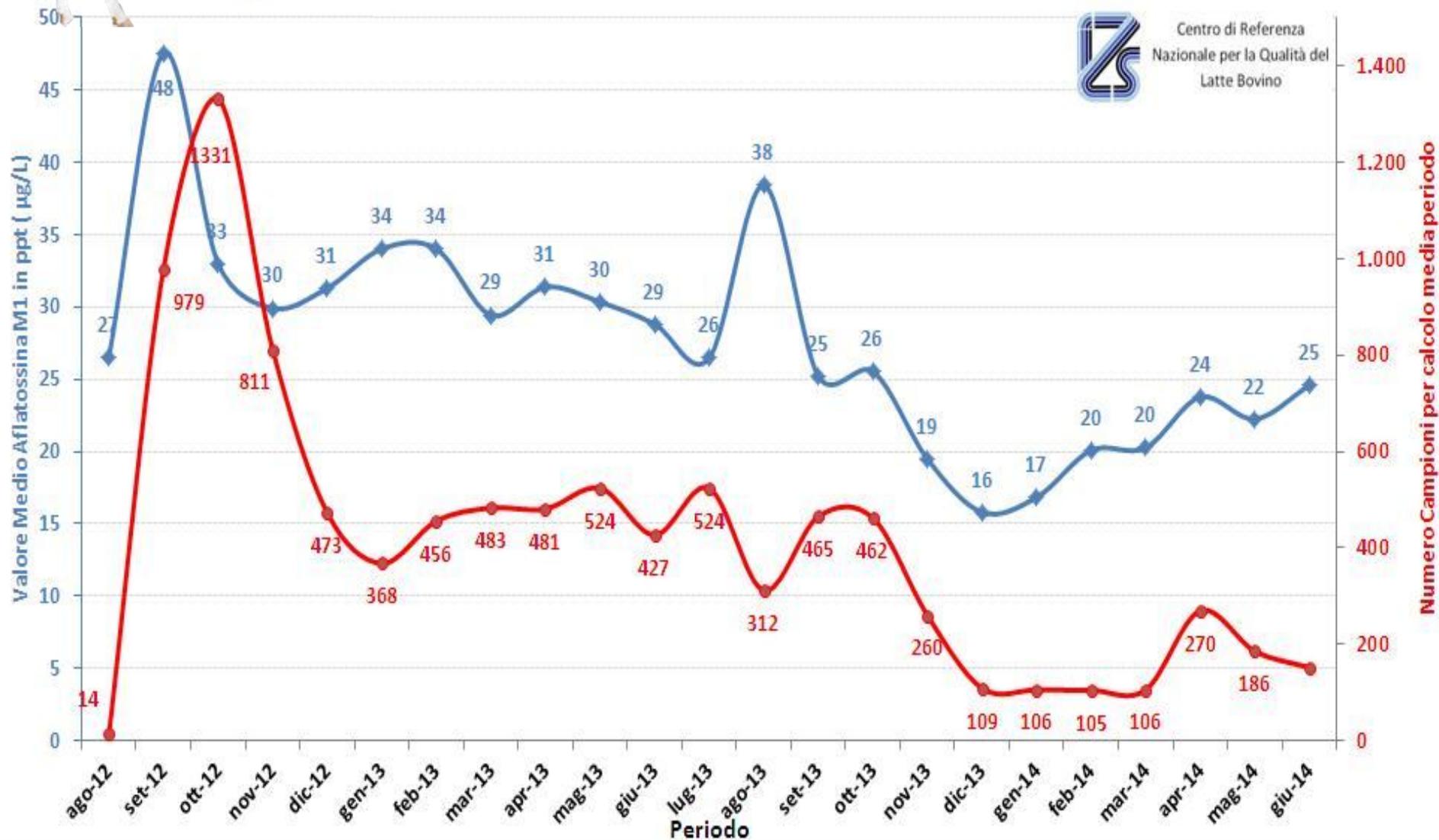


Andamento medio Valore Aflatossina M1 in Latte Regione Lombardia periodo 01.08.12 al 30.06.2014 numero campioni 9.404

Media Valore in ppt Numero Campioni analizzati



Centro di Riferenza
Nazionale per la Qualità del
Latte Bovino



Sorveglianza/monitoraggio Aflatossine nella filiera del latte dei piccoli ruminanti **prospettive-1**

- Nei caseifici della Sardegna: maggiore omogeneità e corretto dimensionamento delle verifiche in autocontrollo per la rilevazione delle contaminazione di AFM_1 ;
- I test di screening opportunamente validati per il latte ovino e caprino sono uno strumento fondamentale per rendere sostenibile la sorveglianza ed il monitoraggio

Sorveglianza/monitoraggio Aflatossine nella filiera del latte dei piccoli ruminanti **prospettive-2**

- Analisi e valutazione di criteri per la programmazione delle attività di sorveglianza/monitoraggio:
 - individuazione di target sostenibili ed efficaci per i campionamenti (latte di autocisterna?)
 - adozione di una soglia di intervento adeguata in relazione al basso livello di contaminazione che si rileva in genere nel latte dei piccoli ruminanti
 - programmazione e frequenza campionamento definite dal caseificio in base a valutazione rischio (tipologia alimentazione, risultati analisi)

Il settore di Ispezione degli Alimenti del Dipartimento di Medicina Veterinaria di Sassari ringrazia

- le **aziende lattiero-casearie** per la collaborazione e la disponibilità dimostrata nel corso delle ricerche
- l'**Associazione Regionale Allevatori della Sardegna** ed il **Laboratorio ARAS** per la costante collaborazione e per la disponibilità di parte dei risultati (monitoraggio in autocontrollo)
- Enti ed organizzazioni che hanno finanziato i progetti consentendo di acquisire i risultati:

Assessorato dell'igiene e sanità e dell'assistenza sociale Regione Autonoma della Sardegna

Programma di ricerca sanitaria finalizzata – anno 2007

“ Acquisizione di dati preliminari sulla presenza di contaminanti abiotici cancerogeni (aflatossina M1, PCDD/Fs e DL-PCBs) nel latte di pecora prodotto in allevamenti della Sardegna a più elevato rischio di contaminazione.”

Consorzio di Tutela del Pecorino Romano DOP

“Studio dei livelli di contaminazione da aflatossina M1 nel Pecorino Romano e confronto con altri formaggi a lunga maturazione”

- L'agenzia **Laore** per la collaborazione nella divulgazione dei risultati delle attività di ricerca