

Studio sulla contaminazione da Aflatossina M1, Aflatossicolo e Sterigmatocistina nei formaggi ovini, caprini e bufalini ai fini della valutazione dell'esposizione per il consumatore.

Domenico Mariagiovanna¹, D'Onofrio Valentina¹, Sanna Andrea¹, Sdogati Stefano², Pecorelli Ivan², Dimarco Pisciotto Ilaria³, Lambiase Sara³, Gallo Pasquale³, Massafra Stefania⁴, Torres Elena⁴, Gili Marilena⁴, Vella Antonio⁵, Condoleo Roberto¹, Militello Guglielmo⁶, Cossu Maurizio⁶, Iulieth Maria Francesca¹, Boselli Carlo¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Via Appia Nuova, 1411 - 00178 Roma; ² Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini, 1 - 06126 Perugia

³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Via Salute, 2 - 80055 Portici (Napoli); ⁴ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 - 10154 Torino

⁵ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Via Gino Marinuzzi, 3 - 90129 Palermo; ⁶ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Via Duca degli Abruzzi, 8 - 07100 Sassari.

Introduzione e scopo della ricerca

L'Aflatossina M₁ (AFM₁) e l'Aflatossicolo (AFL), classificati dalla IARC nel gruppo 1A, e la Sterigmatocistina (STC), nel gruppo 2B, sono tre micotossine che possono essere presenti nel latte e, per effetto della tecnica di lavorazione e della eventuale stagionatura, concentrarsi nei prodotti della caseificazione (formaggi e ricotta). Gli obiettivi della ricerca (PS 01/21), prevedevano:

- A. lo sviluppo, la validazione e l'applicazione di un metodo analitico (LC-MS/MS) in grado di rilevare la presenza di queste 3 micotossine nei prodotti della caseificazione e derivati del siero da latte ovino, caprino e bufalino;
- B. determinare il Fattore di Concentrazione (FC) nei prodotti della caseificazione ottenuti da latte naturalmente contaminato da AFM₁;
- C. valutare l'esposizione del consumatore attraverso la via alimentare.

Metodologia

- A. Messa a punto della metodica di rilevazione:** sono state impiegate colonnine di immunoaffinità elettive per AFM₁, AFL e STC, e standard interni marcati isotopicamente (ILIS). L'analisi strumentale, per ottenere un metodo validato per la determinazione simultanea delle 3 micotossine, prevedeva una separazione chromatografica HPLC con rilevazione in spettrometria di massa, in modalità MRM (Cossu et al., 2025).
- B. Determinazione FC:** durante le attività di routine 2021-2023 per la determinazione di AFM₁ presso IGA CIP, sono stati individuati allevamenti con presenza di AFM₁ nel latte di massa. Da questi sono stati raccolti 20 campioni di latte naturalmente contaminato (bufalino:11, ovino:6, caprino:3), da cui sono stati ottenuti tramite micro-caseificazioni sperimentali dei formaggi e derivati del siero su cui sono state ricerche AFM₁, AFL e STC. FC è stato calcolato come rapporto (%) tra la concentrazione di AFM₁ e STC (se presente) nel formaggio e nel latte di partenza.
- C. Esposizione attraverso la via alimentare:** 440 campioni di formaggi e derivati del siero, collezionati dalla GDO e da caseifici (ovino:186, caprino:149, bufalino:105) ubicati nelle regioni dove risiedevano le UUOO partecipanti al progetto. Su questi campioni è stata ricerata la presenza di AFM₁, AFL e STC. Utilizzando il Margin Of Exposure (MOE), considerando solo il consumo di formaggi realizzati con latte delle specie selezionate ed un livello medio di contaminazione, si è stabilita la soglia di "concern".

Risultati

- A. Messa a punto della metodica di rilevazione:** la metodica di rilevazione simultanea delle 3 micotossine, ha evidenziato performance ottimali in termini di recupero (range 95-103%), LOD (range 0,2-1,0 ng/kg) e LOQ (range 1,0-5,0 ng/kg).
- B. Fattore di concentrazione:** in tabella sono riportati i valori FC per AFM₁ rilevati nei prodotti a base di latte di bufala, ovino e caprino, inclusa l'acqua di filatura della mozzarella di bufala. Per i prodotti a base di latte di bufala è stato valutato anche FC per la STC.
- C. Esposizione attraverso la via alimentare:** AFM₁ e STC, con concentrazione > al LOD, sono state rilevate in circa metà dei campioni (AFM₁: 224; STC: 231). AFL non è mai stato ritrovato al di sopra del LOD. Utilizzando il MOE, i risultati hanno mostrato valori inferiori alla soglia di 10.000, che viene considerata la soglia di "concern".

PRODOTTO	FC AFM ₁
Mozzarella bufala	2,20 ± 0,50
Ricotta bufala	1,11 ± 0,37
Acqua filatura bufala	0,24 ± 0,09
Formaggio pecora fresco	2,94 ± 0,79
Formaggio pecora stagionato 90 gg	4,41 ± 3,07
Ricotta pecora	1,27 ± 0,58
Formaggio capra fresco	3,19 ± 0,69
Formaggio capra stagionato 30 gg	4,54 ± 0,57
Ricotta capra	1,02 ± 0,9

PRODOTTO	FC STC
Mozzarella bufala	6,10 ± 7,66
Ricotta bufala	2,75 ± 3,00
Acqua filatura bufala	1,88 ± 2,08

Tabella 1 e 2. Fattori di concentrazione per AFM₁ ed STC nei differenti prodotti esaminati.



Figura 1. Preparazione del campione.

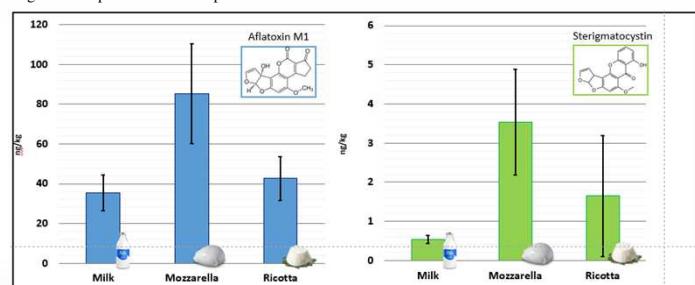


Figura 2. Livelli di AFM₁ e STC in latte, mozzarella e ricotta di bufala.

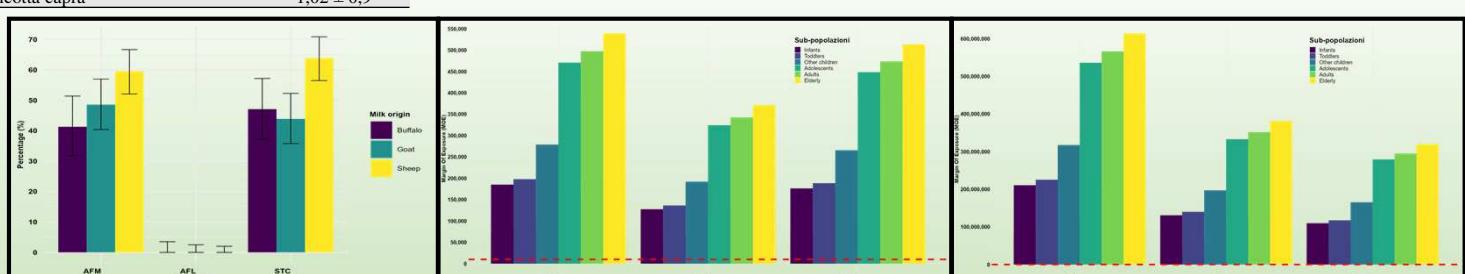


Figura 3. Percentuale di campioni di formaggio prelevati al dettaglio risultati contaminati (> LOD) per specie (sinistra), MOE per AFM₁ (centro) ed STC (destra) considerando le diverse sub-popolazioni attraverso il consumo di formaggio di bufala considerando valori medi di concentrazione nel prodotto, valori Upper bounds ed un consumo medio di formaggio. Linea rossa = MOE al livello 10,000 («limit of concern»)

Discussione e Conclusioni

La gestione e la mitigazione del rischio legato all'esposizione di AFM₁ e STC è un interesse per gli attori della filiera e per le autorità preposte al Controllo Ufficiale. I livelli ritrovati in questo studio rientrano nei limiti massimi di legge. Il valore FC trovato è simile a quello riportato in letteratura ed al valore proposto dal Ministero della Salute Italiano (FC = 3,0) per i formaggi a pasta molle (mozzarella, ricotta, etc.). STC è stata ritrovata solo in basse concentrazioni ed AFL mai trovata.. STC è stata rilevata nella parte esterna dei formaggi analizzati ad elevate concentrazioni, verosimilmente da contaminazione secondaria durante le fasi di conservazione e stagionatura. I dati ottenuti mostrano livelli di concentrazione complessivamente inferiori a quelli rilevati per la specie bovina a livello internazionale mentre gli scenari simulati per valutare l'esposizione sembrano dimostrare un certo margine di sicurezza.

Ricerca Strategica PS 01/21 realizzata con contributo del Ministero della Salute

Bibliografia

- IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. (1972/1987). Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Cossu M, Sanna A, Mangano G, Ledda G, Chessa G, Gallo P, Vella A, Pecorelli I, Sdogati S, Gili M, Boselli C. Emerging Mycotoxins in Cheese: Simultaneous Analysis of Aflatoxin M1, Aflatoxicol, and Sterigmatocystin by LC-MS/MS. Molecules. 2025 Apr 15;30(8):1774. doi: 10.3390/molecules30081774