

*L'editoriale*

## Aflatossine: pericolo da scongiurare?

L'allarme aflatossine ha fatto tremare, durante lo scorso autunno, i produttori e i consumatori di latte delle regioni del Nord Italia, ma dopo esser stato scongiurato il pericolo in queste regioni pare non possa giungere ad una archiviazione finale.

Ma come si è verificato questo fenomeno che ha contaminato il latte prodotto dagli allevamenti? La causa principale sembra risiedere nella pesante siccità verificatasi nella scorsa stagione estiva, la quale producendo effetti di stress per le colture in campo, soprattutto per il mais, ha provocato lo sviluppo di miceti in alcune partite di materie prime e nei mangimi stoccati presso le industrie. Alcune specie di questi miceti sono in grado di produrre una sostanza tossica chiamata aflatossina, che il bestiame può, a sua volta, concentrare nella produzione del latte, avvenimento poi riscontrato in taluni allevamenti dell'Italia del nord e del centro.

La tempestività con cui il grave problema è stato affrontato nelle zone sopraccitate ha dato risultati importanti, ma ora pur senza creare un inutile allarmismo, un campanello che non può essere trascurato è stato fatto scattare anche da noi, poiché le partite di materie prime, precedentemente bloccate, potrebbero essere state dirottate sul nostro mercato, sperando in maglie di controllo più larghe.

Fortunatamente però, grazie alla costante attenzione con cui sono monitorate, e ai rigidi controlli a cui sono sottoposte le produzioni regionali di latte presso il laboratorio di analisi dell'ARAS di Oristano, hanno fornito risultati incoraggianti. Per un approfondimento vedi i risultati pubblicati su questo stesso numero a cura del direttore del laboratorio.

Occorre precisare che i parametri di sicurezza sono molto rigidi per la Comunità Europea, infatti basta ricordare che la soglia stabilita per legge, è fissata sugli 0,05 microgrammi, mentre negli USA, i limiti di aflatossina presente nel

latte sono fissati a 0,5 microgrammi per chilo, ovvero dieci volte superiori a quelli europei.

A sminuire l'allarme per i consumatori, comunque contribuisce anche la modalità del pericolo. Infatti l'aflatossina è in grado di provocare danni sull'uomo, ma solo a dosaggi infinitamente più alti di quelli che corrispondono ai livelli previsti dalla legge. Inoltre c'è da sottolineare che l'aflatossina sviluppa un'azione tossica solo per accumulo nella dieta dell'uomo.

In ogni caso è doveroso istituire nell'ottica di una garanzia di sicurezza e salubrità della filiera latte, una collaborazione totale e leale tra importatori, produttori di mangimi, gli stabilimenti di trasformazione, i veterinari aziendali e ispettori sanitari delle ASL, affinché il latte in commercio sia privo di qualsiasi sostanza tossica.

**Marino Contu**

giugno 2004 n.12

*All'interno:*

- pag. 2 Le aflatossine nel latte:  
Un problema di grande attualità
- pag. 7 Micotossine e produzioni  
casearie
- pag. 11 Quadro normativo
- pag. 12 Controllo e campionamento



## Le aflatossine nel latte: Un problema di grande attualità

**N**egli ultimi mesi del 2003 il problema "aflatossine nel latte" ha creato una situazione d'emergenza che ha coinvolto tutto il comparto lattiero-caseario. Il riscontro di valori superiori ai limiti di legge nel 30-50% delle produzioni di latte vaccino del Veneto, Emilia-Romagna e Lombardia, ha infatti causato enormi perdite economiche e generato allarme per la salute del consumatore. Tale fenomeno, che ha avuto nelle suddette regioni la fase più acuta nei mesi di Settembre ed Ottobre, e che solo in parte al momento si è normalizzata, ha condotto ad un'estensione ed intensificazione dei controlli sul latte di massa e su alcuni alimenti di uso zootecnico. Il conseguente aumento dell'interesse di tutto il comparto si è immediatamente esteso a livello nazionale. In questo contesto di forte tensione, anche le aziende di trasformazione presenti in Sardegna, in particolare nel settore vaccino, hanno innalzato il livello d'attenzione ed espresso l'esigenza di potersi avvalere del contributo del Laboratorio Analisi Latte dell'A.R.A.S.. Lo stesso laboratorio, grazie anche alla collaborazione di diversi gruppi di ricerca dell'Università di Sassari, aveva già pianificato nel corso del 2003 una serie di controlli allo scopo di monitorare il livello di aflatossine nel latte.

### Le Aflatossine

Le Aflatossine sono micotossine, metaboliti secondari prodotti da diversi generi di muffe che colonizzano gli alimenti, caratterizzate da una struttura molecolare che consente interazioni specifiche con certi costituenti cellulari, in particolare il DNA. Le micotossine sono molecole stabili che persistono nei prodotti contaminati anche dopo la morte del fungo, e non vengono distrutte dai normali processi fisici, chimici, biologici (ad es.: processi termici, raffinazione, fermentazione) impiegati normalmente dall'industria alimentare. Le Aflatossine sono prodotte da ceppi di *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Negli alimenti di origine vegetale vengono riscontrate quattro tipi di aflatossine: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>. Le Aflatossine di tipo B vengono prodotte sia da *A. flavus* che da *A. parasiticus*, mentre quelle di tipo G sono prodotte solo da *A. parasiticus*.

Esse possono determinare micotossicosi, ossia intossicazioni alimentari caratterizzate da affezioni croniche o acute, che possono colpire sia direttamente gli animali in produzione zootecnica che l'uomo o, indirettamente, l'uomo tramite metaboliti che contaminano i prodotti di origine animale.

La diversa sensibilità degli animali è in relazione alla diversa capacità di detossificare l'organismo ed alla quantità di epossiderivati della micotossina prodotti. Gli animali monogastrici sono più sensibili e, tra i ruminanti, l'ovino è più resistente del bovino. I sintomi comprendono diminuzione dell'ingestione, ridotta velocità di accrescimento, minore produzione di latte. L'organo più colpito è il fegato, con necrosi emorragiche, ma è stato osservato anche interessamento dei reni, diminuzione della resistenza dei tessuti e predisposizione a lesioni cutanee, ritardo nei tempi della coagulazione ematica. L'intossicazione è nella maggior parte dei casi di tipo cronico, non facilmente evidenziabile, ma con ripercussioni anche dal punto di vista economico. Entrambe le forme, acuta e cronica, hanno un effetto immunosoppressivo, con ridotta capacità di resistenza a malattie fungine, batteriche, virali e parassitarie.

In genere, l'Aflatossina B1 è quella presente in maggiore quantità, più facilmente riscontrabile e che possiede tossicità, sia acuta che cronica, più spiccata: è l'epatocancerogeno attivo per ingestione più potente che si conosca.

Le Aflatossine assunte con l'alimentazione vengono assorbite a livello intestinale passando nel torrente circolatorio, dove si legano alle albumine seriche. L'Aflatossina B1 viene metabolizzata a livello epatico e tra i suoi metaboliti troviamo le Aflatossine M1 e M2, che vengono secrete per via biliare, urinaria e mammaria, in tutti i mammiferi.

Le micotossine sono classificate dallo IARC, in base agli effetti che ha sull'uomo, in diverse classi:

- 1 :cancerogene per l'uomo
- 2A: probabilmente cancerogene per l'uomo
- 2B: possibilmente cancerogene per l'uomo

**Nel 1987 la IARC (International Agency for Research on Cancer) ha dichiarato l'Aflatossina B1 carcinogeno genotossico di classe 1. L'Aflatossina M1, il principale metabolita dell'AFB1 nel latte, è classificata dallo IARC come appartenente alla classe 2B (possibilmente cancerogene per l'uomo).**

L'AFM1 compare nel latte delle bovine entro 2 giorni dall'ingestione dell'alimento contaminato e continua fino a 3-4 giorni dopo la sospensione della somministrazione.

Gli alimenti a destinazione animale più frequentemente contaminati da aflatossine, e quindi più a rischio, sono:

- granella di mais
- farina, semola glutinata, germe di mais
- alimenti ad alto contenuto lipidico quali: farina di arachide, panelli di cocco, di palma e di lino, cotone e derivati

**Esiste un rischio di contaminazione possibile per pastoni di mais ed insilati (quest'ultimo abbastanza modesto), mentre il rischio è trascurabile per orzo, frumento, fieni, foraggi verdi (quest'ultimo praticamente nullo). Non si può escludere tuttavia che si possa avere una produzione d'aflatossine anche in prodotti non considerati a rischio, come conseguenza di una cattiva conservazione.**

La temperatura limite di produzione d'aflatossine è compresa tra i 12 e i 41°C, con una temperatura ottimale di sviluppo tra i 25°C ed i 32°C.

I valori di acqua libera da non superare per garantire una buona conservazione dipendono dalla derrata: 13-14% per i cereali e 7-8% per i semi oleosi.

Le infestazioni in campo sono favorite da alta temperatura ed Umidità Relativa (U.R. ottimale di sviluppo tra 87 e 91%), insieme a condizioni che favoriscono lo stress della pianta, come la siccità, i danni da insetti o una concimazione inadeguata.

Il passaggio dell'aflatossina dall'alimento al latte nei bovini è pari allo 0,17-3%, vi è tuttavia un'elevata variabilità dovuta sia a fattori individuali che allo stadio di lattazione: all'inizio della

lattazione ad es. il valore può triplicarsi, e l'aumento è direttamente proporzionale anche al livello produttivo. L'ipotesi è che vi sia una permeabilità passiva (variabile con la specie animale) dal sangue alle cellule alveolari della ghiandola mammaria. Da alcuni studi compiuti in Sardegna e dal fatto che non è stata rilevata traccia di aflatossina M1 in alcuni campioni di latte ovino analizzati nel laboratorio dell'A.R.A.S., sembra che la specie ovina sia meno a rischio di quella bovina; ciò potrebbe essere anche ascrivibile ad una minore esposizione alimentare.

La maggiore permeabilità degli alveoli durante le infezioni potrebbe essere la causa dell'aumento del carry-over nelle mastiti, in modo direttamente proporzionale al numero di cellule somatiche. Malgrado le diverse cause di variabilità, è tuttavia possibile predire il livello di AFM1 nel latte con l'equazione:

$$\text{AFM1 (ng/Kg nel latte)} = 1,19 \times (\mu\text{g di AFB1 ingeriti/capo/giorno}) + 1,9$$

In base agli studi esistenti, è sufficiente l'ingestione di aflatossina B1 pari a 30-40 ppb ( $\mu\text{g/kg}$ ) al giorno a capo per avere un passaggio di aflatossina M1 nel latte superiore ai limiti di legge, che, in base ai tenori massimi ammissibili stabiliti dalla Comunità Europea, (Regolamento CE 1525 del 16 luglio 1998 e successivo Regolamento CE N.2174 del 12/12/2003) nel latte (latte crudo, latte destinato a prodotti a base di latte, latte trattato termicamente, quali definiti dal DPR 54) è pari a 0,05  $\mu\text{g/kg}$ . Per i prodotti caseari, la Circolare del Ministero della Sanità n°10 del 9 giugno 1999 ha stabilito un limite pari a quello previsto per il latte, corretto in base alla concentrazione conseguente alla trasformazione, solitamente ritenuta pari a circa 5. È evidente, quindi, l'importanza che assume nell'ambito dell'autocontrollo delle aziende di trasformazione il monitoraggio del tenore di aflatossine nel latte, in particolare in Sardegna, in cui quasi la totalità delle produzioni di latte ovino e circa il 50 % di quelle vaccine sono destinate alla creazione di formaggi. L'Istituto Superiore di Sanità ha proposto inoltre la fissazione di un tenore massimo di aflatossina M1 pari a 10 ppt per quanto riguarda il latte da destinare all'alimentazione per l'infanzia ed il Consiglio Superiore di Sanità ha espresso il proprio parere favorevole indicando tali valori, nelle more della emanazione di una normativa nazionale, come "valori guida" per le autorità preposte al controllo ufficiale dei prodotti alimentari. È chiaro come il raggiungimento di standard qualitativi che ottemperino tali prescrizioni possa costituire valore aggiunto e dare maggiore competitività nel mercato.

È evidente che il problema delle aflatossine è un problema "di filiera", e se si vuole tenere sotto controllo il tenore di aflatossine nel latte, occorre adoperare una strategia tesa al monitoraggio sistematico del latte massale, ed introdurre interventi mirati nel caso si riscontrino valori superiori a limiti di attenzione prefissati.

Il laboratorio Analisi Latte dell'A.R.A.S. insieme al prof. De Santis e collaboratori della sezione di Ispezione Alimenti di Origine Animale (Dipartimento di Biologia Animale della Facoltà di Veterinaria di Sassari) ha avviato, nel corso del 2003, una serie di controlli allo scopo di monitorare il livello di Aflatossine nel latte della Regione Sardegna. Lo studio è stato esteso alle diverse Province ed ha coinvolto grandi, medie e piccole aziende. Si è scelto di implementare uno screening iniziale dei campioni di latte attraverso un kit commerciale che adoperasse la metodica ELISA, caratterizzata dalla rapidità di risposta, relativamente alla opportunità di analizzare contemporaneamente un numero

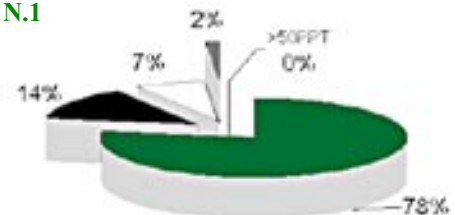
abbastanza elevato di campioni, e dalla elevata sensibilità. Sono stati analizzati con questa metodica, dal gruppo di ricerca di Prof. De Santis, 756 campioni prelevati nel periodo compreso tra il mese di Febbraio e il mese di Luglio del 2003. L'ELISA rappresenta un metodo affidabile ed impiegato per il monitoraggio routinario ma la sua specificità, inferiore al metodo di riferimento, impone l'utilizzazione di metodi di conferma. I campioni nei quali è stata rilevata la presenza dell'AFM1 sono stati pertanto analizzati secondo quanto previsto dalla Norma 14501, che prevede la purificazione del latte mediante cromatografia di immunoaffinità e la successiva misurazione con HPLC.

Per tale scopo, in seguito ad esito positivo della ricerca delle AFM1, nello stesso allevamento veniva ripetuto il prelievo di latte a breve distanza di tempo (3-4 giorni). Sul campione di latte venivano effettuate sia l'analisi mediante E.L.I.S.A. che quella in HPLC. L'analisi in HPLC è stata eseguita dal Laboratorio Analisi Latte dell'ARA, che si è avvalso, in questa fase, anche della collaborazione del Prof. Palomba del Dipartimento farmaco-chimico tossicologico (Corso di laurea in Farmacia di Sassari) e del Dott. Battaccone del Dipartimento di Scienze Zootecniche (Facoltà di Agraria di Sassari).

Come si evince dal grafico 1 i risultati di questo monitoraggio hanno evidenziato che la maggior parte delle aziende (77%) nel periodo in esame presentavano con il metodo E.L.I.S.A. valori di Aflatossina M1 inferiori a 10 ppt e solo il 2% superiori ai 30 ppt, mentre il 14% dei campioni presentava valori compresi tra 10 e 20 ppt ed il 7% tra 20 e 30 ppt. Tra i valori superiori ai 30 ppt, solo 2 erano superiori ai limiti di legge (1 relativo al periodo invernale ed 1 al periodo estivo), peraltro non confermati dagli esami successivi con ulteriori prelievi, mentre 3 erano compresi tra 40 e 50 ppt (1 nel periodo invernale e due nel periodo primaverile).

**Distribuzione dei campioni analizzati con metodica Elisa**  
periodo: inverno - primavera - estate 2003 (tot.: 756)

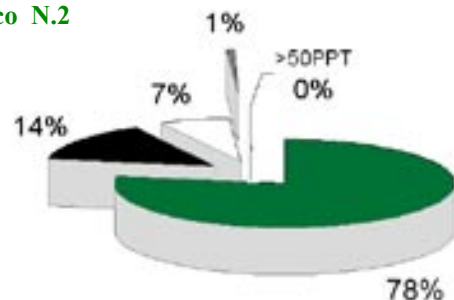
grafico N.1



Si è riscontrata una diminuzione del tenore di aflatossina M1 nel periodo primaverile rispetto a quello invernale, come si può evincere dai grafici 2 e 3, ed un innalzamento nel periodo estivo rispetto a quello primaverile ed invernale (grafico 4).

**Distribuzione dei campioni analizzati con metodica Elisa**  
periodo: inverno 2003 (tot.: 395)

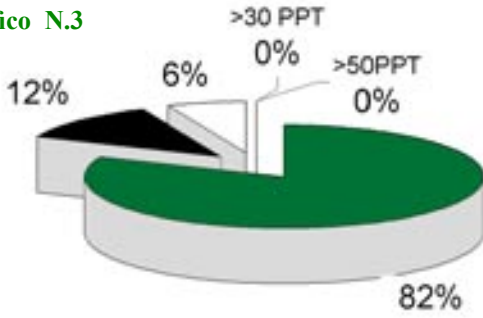
grafico N.2





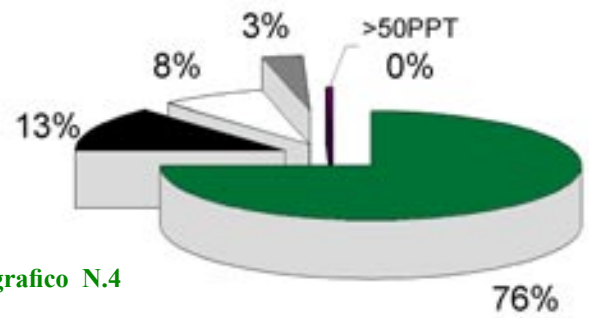
**Distribuzione dei campioni analizzati con metodica Elisa**  
*periodo: primavera 2003 (tot.: 140)*

grafico N.3



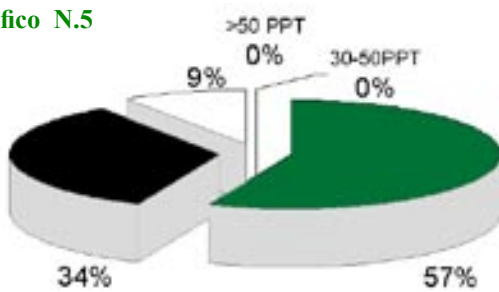
**Distribuzione dei campioni analizzati con metodica Elisa**  
*periodo: estate 2003 (tot.: 221)*

grafico N.4



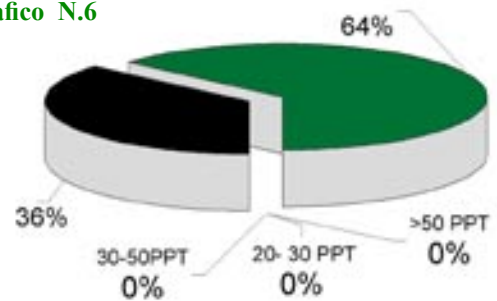
**Distribuzione dei campioni analizzati con HPLC**  
*periodo: inverno - primavera 2003 (32 campioni)*

grafico N.5



**Distribuzione dei campioni analizzati con HPLC**  
*periodo: estate 2003 (11 campioni)*

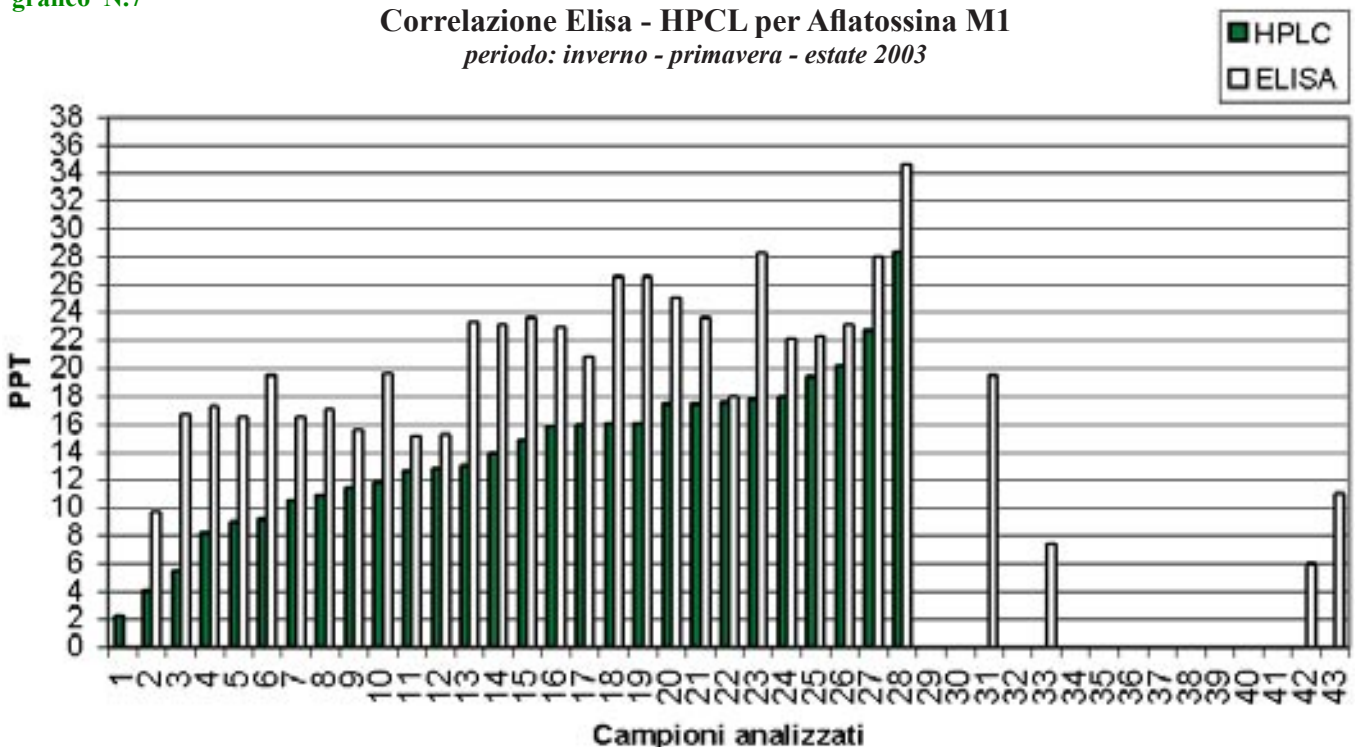
grafico N.6



Un gruppo costituito da 43 campioni, in precedenza analizzati solo con il test preliminare di screening in E.L.I.S.A. , è stato riprelevato ed analizzato con metodica HPLC (grafici 5 e 6). I grafici evidenziano che nel periodo estivo si è registrato un aumento del numero di campioni nel range compreso tra 10 e 20 ppt (dal 55% al 64%), mentre non si sono rilevati valori superiori a 20 ppt. Data l'esiguità del numero di campioni relativi al periodo estivo (solo 11 rispetto ai 32 del periodo invernale-primaverile), tali risultati hanno sicuramente minore significato statistico dei precedenti, tuttavia i dati di origine sono utili per valutare il tasso di correlazione tra i due metodi e la validità del test di screening (grafico 7).

grafico N.7

**Correlazione Elisa - HPCL per Aflatossina M1**  
*periodo: inverno - primavera - estate 2003*



Come si evince dal grafico, nella fase di verifica con ulteriori prelievi si sono riscontrati valori sempre al di sotto di 40 ppt, sia con la metodica E.L.I.S.A. che con quella HPLC.

La correlazione tra i due metodi è risultata pari a 0,91 e la dev.st. pari a 9,6. I risultati ottenuti evidenziano che esiste un'ottima correlazione tra i due metodi, ma evidenziano una sistematica sovrastima della metodica E.L.I.S.A. rispetto a quella con HPLC, che pare, secondo quanto riportato in altri studi, essere stata osservata in particolare sui valori sopra i 30 ppt. L'E.L.I.S.A. si conferma un efficace metodo di screening dal momento che minimizza il rischio di falsi negativi, d'altra parte si rende necessario confermare i valori ritenuti sopra il livello di attenzione, in particolare sui valori sopra i 30 ppt, con metodica HPLC, più precisa ed affidabile.

Conclusa la fase sperimentale, il laboratorio ha avviato una serie di controlli, avvalendosi della metodica HPLC, che nel periodo compreso tra Ottobre 2003 e gennaio 2004 ha coinvolto 74 campioni, di cui 67 campioni massali e 7 di singole aziende. I risultati sono riportati nei grafici 8 e 9.

**Distribuzione dei campioni analizzati con HPLC**  
*periodo: ottobre 2003 - gennaio 2004*  
(comprese le singole aziende: 74 campioni)

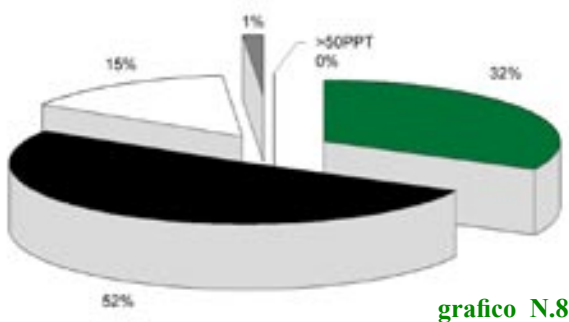


grafico N.8

**Distribuzione dei campioni analizzati con HPLC**  
*periodo: ottobre 2003 - gennaio 2004*  
(solo masse: 67 campioni)

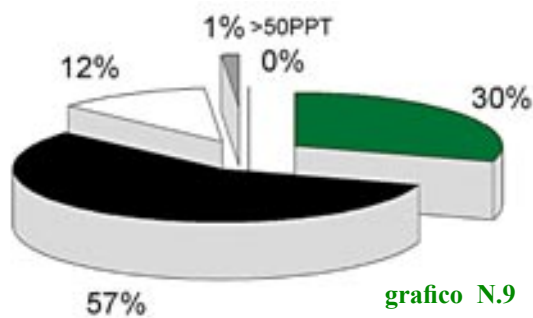


grafico N.9

Il grafico 8 comprende alcuni campioni di singole aziende la cui analisi è stata ripetuta, dopo ulteriore prelievo, perché il latte massale in prima analisi ha presentato valori più alti della media. Alcuni di questi campioni in seconda analisi si sono rivelati contenere aflatossina M1 in concentrazione inferiore a 10 ppt, altri con una concentrazione compresa tra 20 e 30 ppt.

I risultati, rispetto alla realtà di altre Regioni, sono confortanti: non si sono osservati valori sopra i limiti di legge, e si è registrato 1 solo campione con valori superiori a 30 ppt. Tuttavia si sono riscontrati valori di aflatossine più elevati rispetto a quelli relati-



vi alle altre stagioni dello stesso anno. E' opportuno pertanto non abbassare il livello di guardia, essendo infatti ancora presente il rischio di importare derrate alimentari contaminate. Il continuo monitoraggio del latte attraverso controlli analitici è un sistema utile per evidenziare immediatamente le aziende interessate al problema aflatossine, e limitare gli effetti della contaminazione nell'azienda zootecnica.

#### Ruolo dell'allevatore.

E' indispensabile predisporre piani di controllo per le nuove partite di alimenti, con misure preventive tese a impedire l'introduzione di derrate alimentari contaminate e a minimizzare i rischi di proliferazione di muffe e produzione di micotossine durante la produzione e conservazione delle stesse. Perché il sistema di prevenzione sia efficace non si può prescindere dall'osservare alcune prescrizioni fondamentali:

- la gestione degli acquisti deve essere inserita in un sistema di qualificazione dei fornitori
- occorre definire con il fornitore un livello massimo di contaminazione accettabile coerentemente con i dettami della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 7/2/2002 relativi alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali. Tale direttiva fissa valori soglia particolarmente restrittivi nell'ambito degli alimenti destinati agli animali da latte (concentrazione massima 0.005 mg/Kg ( 5 ppb)).

Per quanto concerne gli alimenti prodotti in loco, una strategia mirata a limitare il rischio di contaminazione può essere basata su diverse criteri, ad esempio:

- realizzare pratiche colturali adeguate, che diminuiscano gli attacchi fungini in campo, o impiegare cultivar precoci
- evitare gli stress idrici, i danni meccanici o da insetti
- concimare in modo adeguato
- evitare gli accumuli delle granelle prima dell'essiccazione e portarle nelle condizioni di umidità da stoccaggio nel più breve tempo possibile
- se non è possibile essiccare in modo tempestivo, trattare la granella con sostanze antifungine
- essiccare il mais con tenore di umidità inferiore al 14%



In allevamento è necessario osservare procedure tese a ridurre e controllare l'inquinamento, quali:

- la sistematica pulizia delle aree di stoccaggio o dei silos ed il loro trattamento con sostanze antimuffa
- l'apertura del coperchio degli stessi durante la notte, quando possibile, per permettere la fuoriuscita dell'umidità
- il controllo analitico degli alimenti utilizzati in razione

Se, nonostante la corretta applicazione delle misure preventive concordate con gli esperti del settore, si riscontrino tenori di aflatoossina nel latte di cisterna superiori ad un prestabilito valore di attenzione, il laboratorio trasmette immediatamente tale risultato in modo da consentire l'esecuzione, in tempi brevi, di un'ulteriore analisi.

Il prelievo del secondo campione è circoscritto alle aziende il cui latte è conferito nella massa in cui si è osservata una concentrazione di aflatoossina superiore alla soglia prefissata. Nello stabilire tale soglia si deve considerare l'effetto di diluizione che il latte delle singole aziende subisce nel confluire all'interno della massa, che è inversamente proporzionale alla quantità di latte versata. Una volta individuata l'azienda problema, l'allevatore potrà avvalersi della collaborazione e della consulenza di esperti del settore (Ist. Zooprofilattico, Università, agronomi e veterinari A.R.A., lo stesso laboratorio dell'A.R.A. etc.) i quali, ognuno secondo le proprie competenze, potranno suggerire gli interventi più opportuni per fronteggiare l'emergenza.

Alcuni dei primi interventi da attuare in presenza di un elevato tenore in AFM1 potrebbero essere costituiti da:

- la ricerca negli alimenti somministrati all'animale dell'aflatoossina B1 (ricerca già effettuata presso il laboratorio A.R.A.S. con metodica E.L.I.S.A.)
- la sospensione dell'utilizzazione degli alimenti che con maggiore probabilità possono essere contaminati (granella di mais, semi oleosi) sostituendoli con mangimi costituiti da materie prime con basso rischio di contaminazione (soia, crusca, fieno)
- l'utilizzazione di partite di alimenti certificati a ridotta contaminazione da AFB1
- la somministrazione eventuale di "sequestranti" (es. Zeoliti o simili)

- una nuova analisi del latte dopo qualche giorno (4-5) dalla variazione della razione alimentare

Concludendo, si evince che la soluzione ottimale al problema della contaminazione è adoperare tutte le misure preventive necessarie operando in un sistema di cooperazione e di sinergia nell'ambito delle diverse competenze e ruoli. L'allevatore, in collaborazione con esperti zootecnici, agronomi, veterinari, e con il Laboratorio Analisi Latte, deve:

- avvalersi di fornitori che offrano uno standard qualitativo superiore e rifiutare partite non certificate, nell'ambito degli approvvigionamenti
- sottoporre l'alimento più a rischio a controlli analitici
- individuare i componenti a rischio nella razione e scegliere gli ibridi con ciclo di maturazione più adatto; identificare il tipo di concimazione e il tipo di trattamento preventivo più appropriati per limitare la proliferazione fungina
- sorvegliare lo stato di salute animale, evidenziando eventuali sintomi correlati alle micotossicosi

Infine, compete comunque al caseificio, effettuare, con cadenza almeno trimestrale, il monitoraggio delle cisterne in ingresso presso gli stessi stabilimenti e, come illustrato in precedenza, estendere necessariamente al latte dei singoli conferitori la determinazione della concentrazione di aflatoossina nel momento in cui il valore di contaminazione del contenuto delle autocisterne dovesse superare la soglia di attenzione predefinita nell'ambito dell'autocontrollo aziendale.

**Antonio Caria**  
**Cristiana Cicalò**





# Micotossine e produzioni casearie

*Sintesi del corso di aggiornamento per tecnici ARAS settore bovini tenutosi ad Oristano il 16-17 dicembre 2003 relatori: Maria Carmela Ferrante ricercatrice della facoltà di Medicina Veterinaria di Napoli nel settore di Tossicologia veterinaria; Amedeo Pietri docente della facoltà di Agraria dell'Università Cattolica di Piacenza in Analisi chimiche, fisiche e sensoriali dei prodotti alimentari.*

**A**ffrontiamo il tema delle micotossine con particolare riguardo alla loro presenza nel latte e nei prodotti derivati. Le micotossine sono metaboliti secondari, sostanze tossiche, che sono prodotte dalle muffe. Ne sono state identificate più di 300. La tossicità per l'uomo o per l'animale è riconosciuta per alcune micotossine mentre di altre non si conoscono gli effetti. La produzione di micotossine è legata alla presenza di muffe. Le micotossine sono molecole molto stabili e persistono anche dopo la scomparsa delle muffe che le hanno prodotte. Se ricerchiamo le UFC (unità formanti colonia) in un alimento il dato ottenuto non è un'indicazione della presenza di micotossine (ad es. il trattamento termico di pellettatura di un mangime abbatte le UFC ma non distrugge le micotossine).

Cosa provocano le micotossine negli animali?:

- Riduzione delle performance.
- Aumento dell'incidenza delle malattie.
- Problemi riproduttivi.

Nell'uomo le micotossine provocano:

- Danni diretti: per esposizione diretta ai contaminanti
- Danni indiretti: per i residui presenti nelle derrate alimentari di origine animale

La maggior parte delle micotossine non passa alle derrate alimentari perché viene bloccata o metabolizzata dall'animale (fegato, rumine). A volte vi è un passaggio negli alimenti di metaboliti delle micotossine che non è completo ed ha minor tossicità.

Le micotossine nel latte provocano:

- Possibili residui nel latte.
- Alterazione della qualità dei prodotti.
- Modifica caratteristiche casearie (effetti non positivi sui microrganismi che agiscono nelle trasformazioni casearie).

*Le micotossine che presentano maggior interesse per noi sono:*

Micotossine	Fungo produttore	Effetto tossico	Alimento contaminato
Aflatossine -B1, B2, G1, G2, -M1, M2	Flavus, Parasiticus, altre Aspergillus spp. Metaboliti	Epatiti, nefriti, tumori	Arachidi ed altre leguminose, mais ed altri cereali, semi oleosi, noci e mandorle. latte e suoi derivati
Zearalenoni -zearalenone -zearalenolo	F. Roseum, F. Tricinctum, F. Moniliforme, altre Fusarium spp	Iperestrogenismo, ipofertilità	Mais ed altri cereali
Ocratossine -ocratossina A -ocratossina B	Aspergillus ocraceus, Penicillium viridicatum, Altri Aspergillus spp. E Penicillium spp.	Nefriti, epatiti	Orzo, mais ed altri cereali. Pane, pasta ed altri prodotti da forno
Tricoteceni -tossina T2 -deossinivalenolo -diacetossiscirpenolo -nivalenolo	F. rosum, F. solani, F. tricinctum ed altri Fusarium spp.	Emorragie, leucopenie, disturbi nervosi Vomito e rifiuto del cibo	Mais, orzo ed altri cereali
Rubratossina -rubratossina A -rubratossina B	P. rubrum, P. purpurogenum, altri Penicillium spp.	Emorragia, degenerazione epatica.	Mais ed altri cereali
Citrina	Penicillium spp.	Epatiti, nefriti	Cereali

Le micotossicosi sono state individuate per la prima volta circa quaranta anni fa (fenomeni di mortalità in allevamenti di tacchini); perché è aumentata l'attenzione nei confronti delle micotossine in questi ultimi anni?:

- Abbiamo metodi analitici più accurati
- Si hanno migliori conoscenze dei loro effetti
- Vi sono annate con situazioni climatiche più favorevoli allo sviluppo di micotossine
- Sono modificati i sistemi di raccolta e conservazione degli alimenti
- Siamo in presenza di animali più stressati perché maggiormente produttivi
- Sono più frequenti le situazioni di sub-carezza

- L'aumentato livello di ingestione e la velocizzazione del passaggio degli alimenti a livello ruminale dovuti a livelli produttivi più elevati ha comportato una riduzione dei processi di degradazione delle micotossine a livello ruminale
- Per sostenere le elevate produzioni dovute alla spinta selettiva si somministrano razioni con più elevati apporti di cereali e, quindi, con maggior possibilità di ingestione di alimenti inquinati da micotossine
- La selezione genetica potrebbe aver favorito la selezione di animali più sensibili

Nei ruminanti l'aumento dell'utilizzo di cereali ha portato ad un aumento dei problemi di micotossicosi.

Quali sono gli obiettivi che stanno alla base del maggior controllo delle micotossine negli alimenti?

- Maggior tutela dei consumatori
- Maggior tutela degli addetti ai lavori
- Maggior salute animale
- Maggior qualità delle produzioni

Le micotossine vengono classificate secondo i diversi effetti che hanno sull'uomo:

- 1 → Cancerogene per l'uomo
- 2A → Probabilmente cancerogene per l'uomo
- 2B → Possibilmente cancerogene per l'uomo

Le Aflatossine B1, B2, G1, G2 sono presenti soprattutto nel mais, arachide, lino, cocco, palma

L'Aflatossina M1 è presente nel latte

L'Ocratossina è presente nei cereali

L'aflatossina B1 è certamente cancerogena, epatotossica, provoca danni al DNA, dà immunosoppressione

L'aflatossina M1 è mutagena (quindi relativamente meno pericolosa della B1), epatotossica, provoca danni al DNA ed ha azione immunosoppressiva

Sono state fissate delle normative che regolano la presenza massima delle aflatossine M1 nel latte e derivati a 0,05 µg/kg.

Nei formaggi si deve tener conto di un fattore di concentrazione variabile tra 4 e 5.

Negli alimenti per l'infanzia la M1 deve essere sotto a 0,01 µg/kg (10 ppb).

## TABELLA DI CONVERSIONE

$$\begin{array}{l} \text{ppm} = \text{mg/Kg} \\ \downarrow \quad \quad \quad ( / 1000 ) \\ \text{ppb} = \mu \text{ g/Kg} \\ \downarrow \quad \quad \quad ( / 1000 ) \\ \text{ppt} = \eta \text{ g/Kg} \end{array}$$

### Le Aflatossine

Sono prodotte principalmente da *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.

Le temperature ottimali per lo sviluppo di queste muffe variano fra i 27 ed i 37°C.

L'organismo lotta contro le micotossine con reazioni di detossificazione che portano alla loro escrezione.

Le aflatossine assorbite con l'alimentazione vengono escrete attraverso le urine, la bile, il latte dopo aver subito processi di detossificazione.

Nel latte di bufala si ritrovano anche l'aflatossina M2 e B1, oltre la M1, mentre nel latte di vacca troviamo esclusivamente aflatossina M1 (AFM1). La AFM1 è classificata dallo IARC come 2B e cioè possibilmente cancerogena per l'uomo.

L'AFB1 cosa provoca?

### **Meccanismo d'azione tossica**

- Inibizione sintesi t-rna → blocco sintesi proteica
- Inibizione enzimatica
- Alterazione di membrana
- Inibizione cofattori enzimatici

## CONDIZIONI DI SVILUPPO

- UMIDITA' (umidità relativa superiore al 70%)
- OSSIGENO (minimo 1-2%)
- TEMPERATURA (elevata promuove lo sviluppo di *Aspergillus*, bassa promuove lo sviluppo di *Fusarium*)

\*differente epoca di maturazione dei diversi cereali

Quali sono gli alimenti a rischio per aflatossina B1?:

### 1. Rischio medio e elevato

- Arachide e derivati
- Farina estrazione e germe di mais
- Corn gluten feed
- Semola glutinata di mais
- Pannello di cocco
- Pannello di palma
- Granella di mais
- Pannello di lino

### 2. Rischio possibile

- Cotone
- Pastone di mais
- Insilati di mais (rischio abbastanza modesto)

### 3. Rischio trascurabile

- Orzo
- Frumento
- Fieni
- Foraggi verdi (praticamente nullo)

Come si possono controllare gli effetti delle micotossine?:

- Attraverso l'utilizzo di sostanze sequestranti quali bentoniti, sepioliti, zeoliti, carboni attivi.
- L'efficacia dipende dalla sostanza utilizzata e dalla micotossina che si vuole sequestrare.
- Utilizzo di epatoprotettori-antiossidanti.

### I Tricoteceni

A – T2- DAS : sono prodotti da *F. sporotricoides* (necrosi della coda)

B – DON : è prodotto da *F. roseum*

Gli alimenti in cui si trovano sono il mais, il sorgo, il frumento, la segale, l'orzo.

Il DON induce riduzione dell'ingestione.

La presenza di DON è stata dimostrata di avere un effetto negativo sulla produzione di latte.

Per prevenire la contaminazione da micotossine bisognerebbe poter impedire la crescita fungina sugli alimenti: il che è praticamente impossibile in determinate condizioni ambientali.

L'unica strada percorribile passa attraverso il controllo delle materie prime, in particolare i cereali e, in seconda battuta, gli insilati ed i fieni.

Quali sono le tendenze internazionali nei confronti delle



micotossine?

Nell'opinione del 20 febbraio 2003 lo SCAN ha confermato quello che deve essere ritenuto come livello massimo accettabile di contaminazione degli alimenti da AFB1.

Sempre lo SCAN ha posto l'attenzione sulla necessità di definire i rischi ed individuare i livelli massimi accettabili anche per zearalenone, ocratossina e DON.

Ha poi proposto un monitoraggio per quanto riguarda fumonisina e tossina T2.

E' fondamentale attuare un controllo di filiera.

Per il latte la lotta alle micotossine è incentrata sulla gestione dell'alimentazione all'interno degli allevamenti.

### Passaggio della micotossina B1 nel latte e nel formaggio sotto forma di M1.

Nell'ambito di alcune giornate di aggiornamento per zootecnici e veterinari bovini dell'ARAS tenutesi ad Oristano la relazione del prof. Amedeo Pietri - Istituto di Scienze dell'Alimentazione e della Nutrizione, Università Cattolica di Piacenza - si è incentrata sul passaggio eventuale della micotossina B1 nel latte e nel formaggio sotto forma di di M1.

Le micotossine per passare dall'alimento al latte devono essere in grado di resistere alle condizioni di anaerobiosi del rumine e di idrolisi.

Il rumine non è in grado di bloccare la aflatoossina B1, ha invece un'azione demolitrice nei confronti dei tricoteceni e della T2. Le micotossine una volta passata la barriera ruminale sono soggette a processi enzimatici di biotrasformazione (parziale o completa) che modificandone la struttura ne alterano anche la tossicità e le vie di escrezione.

### PERCENTUALE DI ESCREZIONE DELL'AFLATOSSINA M<sub>1</sub> RISPETTO ALL'AFLATOSSINA B<sub>1</sub> INGERITA

**0.2% - 5% (3% medio)**

### TEST DI DETERMINAZIONE DELL'AFLATOSSINA M<sub>1</sub>

- IMMUNOLOGICO (estrazione M1 - anticorpi monoclonali - valutazione fluorescenza)
- HPLC CROMATOGRAFIA
- FLUORIMETRIA

### Deossivalenolo

Nel latte troviamo DOM-1, DON e DON glucuron-coniugato

### Ocratossina

Nel latte si ritrova OTA e OTa

### Zearalenone

Nel latte ZEA a, b, ZEL e ZEA glucuron-coniugato.

### Aflatossina B1

Nel latte ritroviamo AFM1 (e AFB1 nel latte di bufala)

Nei ruminanti si trovano nel latte più frequentemente i metaboliti che, in genere, non sono tossici (ad es. per l'ocratossina nel latte di vacca troviamo la OTa mentre nella scrofa si trova la OTA).

Le micotossine passano nel latte attraverso un meccanismo pas-

sivo di passaggio attraverso la membrana cellulare.

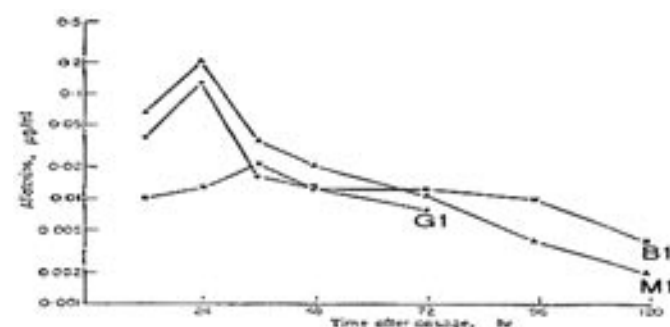
Questo meccanismo spiega perché alcune micotossine passano tal quali nel latte ed altre no: si è visto che le micotossine più acide sono sfavorite nel passaggio attraverso la membrana cellulare.

Per DON, T2 e Zearalenone il passaggio nel latte è quasi nullo e quasi sempre sotto forma di metaboliti anche di fronte a somministrazioni molto superiori a quelle che si verificano normalmente nella realtà di campo.

Per la fumonisina non si ha passaggio nel latte.

Anche per l'ocratossina non si ha passaggio.

### ALL'AFLATOSSINA B<sub>1</sub> INGERITA (6.600 ppb)



Ruth et al, 1968

			* Alimento/Tessuto
Bovini da carne	Fegato	B1	14.000
Vacche da latte	Latte	M1	75-40

\* : Livello di AFB1 nella dieta diviso il tenore di AFB1 dello specifico tessuto

La percentuale di passaggio (carry-over) delle aflatoossine AFB1 in AFM1 nel latte aumenta con l'aumentare delle produzioni.

A livelli di produzione di 30 litri di latte/giorno la percentuale di passaggio è di circa il 3%.

Per rispettare i limiti di legge di 50 mg/kg di AFM1 nel latte la vacca da latte non deve ingerire più di 40 mg di AFB1 al giorno. Negli animali vi è grande variabilità individuale nell'escrezione. Ad inizio lattazione il carry-over è maggiore di 3-3,5 volte rispetto alla fase di lattazione avanzata.

Anche le infezioni mammarie (mastiti) influiscono sul carry-over.

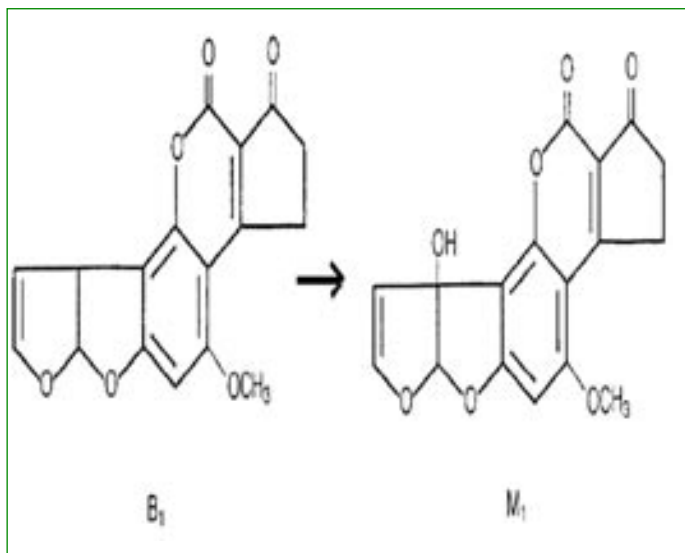
### CONSIDERAZIONI NUTRIZIONALI

La contaminazione degli alimenti con aflatoossine determina:

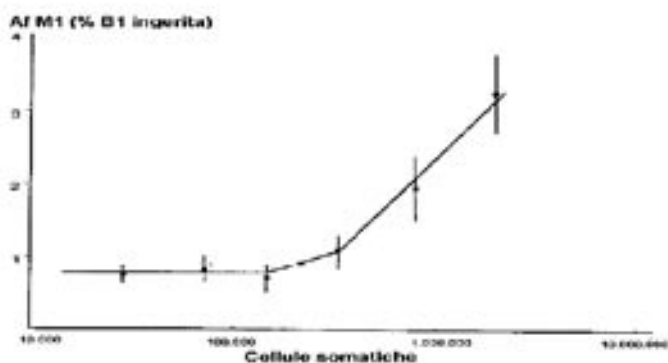
Riduzione del valore nutritivo 5-10%

- ENERGIA -5%
- PROTEINA -7%
- GRASSI -60% !!!

Produzione di sostanze ad azione antibiotica che riducono l'attività ruminale



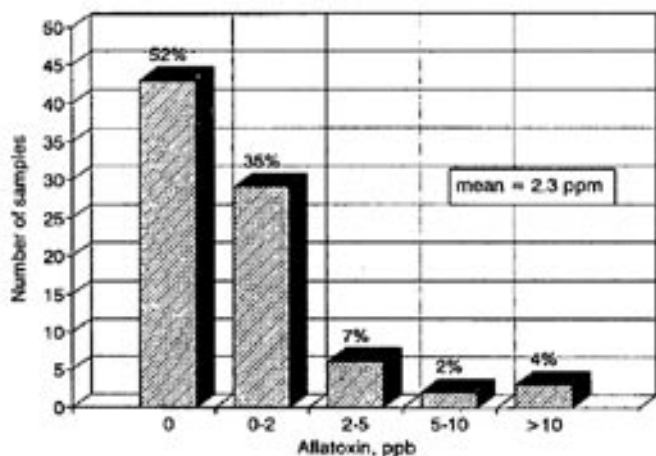
### Aumento dell'escrezione dell'aflatossina $M_1$ nel latte in relazione all'aumento di cellule somatiche



\*Influenza dello stato sanitario sulla quota di fissazione (Lafont et al., 1983)

Se si somministra la AFB1 al mattino, già alla sera troviamo AFM1 nel latte. La quantità aumenta poi nei giorni successivi fino a stabilizzarsi (se la somministrazione continua). Se togliamo l'alimento inquinato da AFB1, nell'arco di due-tre giorni scompare la AFM1 nel latte.

In una indagine condotta su 130 campioni di mais il 13% di questi superava i valori massimi accettabili di 5ppb.



La AFM1 si suddivide in percentuali diverse tra siero e cagliata:

	1° caseificazione	2° caseificazione
Siero	52,5%	57,6%
Cagliata	43,1%	39,6%

Ricerche condotte negli Stati Uniti su formaggio tipo Parmesan hanno mostrato una concentrazione delle AFM1 di 5,8 volte nel formaggio rispetto al latte.

Nelle prove effettuate nel nostro istituto su Grana Padano non si è arrivati a concentrazioni superiori a 4 attestandosi a 3,7 e a 3,3 volte ad un anno di stagionatura (4,3 volte a tre mesi di stagionatura).

Sono stati illustrati i dati di un monitoraggio effettuato sul campo dagli organismi di controllo del Consorzio del Parmigiano-Reggiano per individuare la presenza di aflatossine nei mangimi forniti al bestiame. Nel corso del 2002 su 333 campioni effettuati dal laboratorio del Consorzio non ne è stata rilevata presenza nel 40% dei campioni.

Il 42% dei campioni aveva valori compresi tra 0 e 1. I valori non conformi a quanto previsto dall'albo dei mangimisti del Consorzio hanno riguardato l'1,6% dei campioni con un valore di AFB1 maggiore di 5ppb.

La fonte principale di micotossine è il mais. Per controllarle dobbiamo verificare con attenzione i fornitori e tener monitorati i mangimi in ingresso in azienda e, soprattutto, dobbiamo pulire frequentemente i silos di stoccaggio, in particolare quelli di vetroresina, all'interno dei quali più facilmente si verificano fenomeni di condensa alle pareti che possono creare le condizioni per lo sviluppo di muffe.



## Possibili interventi preventivi e curativi

Decontaminazione e cure di deposito		Decontaminazione				
		↓			↓	
Alimento	→	Stoccaggio	→	Animale	→	Latte
↑				↑		
Decontaminazione e cure colturali			Sost. Adsorbenti			

## Prevenzione della contaminazione degli alimenti

<b>In campo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Varieta' di piante resistenti ai funghi</li> <li>Evitare stress alle piante (rotazione colturale, irrigazione, lotta antiparassitaria)</li> <li>Rapido essiccamento subito dopo la raccolta</li> </ul>
<b>Stoccaggio</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mantenimento dell'essiccamento</li> <li>Conservare i prodotti umidi a basse t°, o in atm controllata, anaerobiosi, lotta chimica (antibiotici, fungicidi, fumiganti, ecc.)</li> </ul>
<b>Lavorazione</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Evitare condizioni tecnologiche favorevoli allo sviluppo dei funghi (umidità, t°)</li> <li>Uso di preservanti (oli essenziali, spezie, antiossidanti, ac. Organici ecc.)</li> <li>Scarto di ingredienti sospetti</li> </ul>

## Interventi curativi sull'alimento

### Alimento decontaminazione

<b>Fisica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rimozione delle parti contaminate</li> <li>Stabili al calore innattivate a 250° c 0 a 120° c in autoclave per 30 min</li> </ul>
<b>Chimica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Detossificazione alcalina con ammoniaca gassosa (orzo, mais e sottoprodotti delle oleaginose)</li> <li>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (latte)</li> <li>Detossificazione con idrossido di na, ca, bisolfito di na metilamina, formaldeide</li> </ul>
<b>Biologica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fermentazione con lieviti</li> <li>Flavobatteri (latte, olio, burro)</li> </ul>

## Interventi curativi sull'animale

### Uso di adsorbenti intestinali

- Carboni attivi, bentonite
- Aluminosilicati
- Lieviti

## Quadro normativo

- 1998 Regolamento (CE) n° 1525/98 del 16/07/ 98:  
fissa i limiti per le Aflatossine nelle arachidi, frutta, a guscio, cereali e latte.  
In vigore dal 01/01/99
- 1998 Direttiva 98/53/CE della commissione del 16/07/99:  
stabilisce i metodi di campionamento e i metodi ufficiali di analisi per le Aflatossine
- 1999 Circolare 09/06/99, n°10 (GU 11/ 06/99)  
L'Italia recepisce il Regolamento (CE) n°1525/98 del 16/07/98 ed aggiunge dei valori guida per Aflatossine (spezie e piante infusionali), Ocratossina A, Patulina e Zearalenone
- 2000 DM 23 dicembre 2000 (GU 09/02/01)  
L'Italia recepisce la Direttiva 98/53/CE
- 2002 Regolamento (CE) n° 472/2002 del 12/03/02:  
definisce i tenori massimi per le aflatossine nelle spezie e per l'ocratossina A nei cereali e frutta secca
- 2002 Direttiva 2002/26/CE del 13/03/02  
definisce i metodi di campionamento per la ricerca di Ocratossina A nei cereali



## Controlli e campionamento

### *Schema di campionamento*

Arriva con una nave una partita da 500 t di arachidi

500 t

La partita viene suddivisa  
in 5 sottopartite da 100 t

100 t

Dalla sottopartita da 100 t  
viene estratto un campione  
da 30 Kg

30 kg

Il campione globale viene  
diviso in 3 sottocampioni

10 kg



### *DM 23/12/2000 (Dir. CE 98/53)*

Direttiva CE 98/53

Campionamento rappresentativo:

- Identificazione della partita
- calcolo dei campioni incrementali
- adeguatezza del campione globale

Campionamento rappresentativo:

- preparazione del campione di saggio
- uso di metodi accreditati
- personale abilitato

Accettazione o rifiuto partita

## Definizioni

- Partita
- Sottopartita
- Campione elementare
- Campione globale
- Campione di laboratorio
- Aliquota

## Fonti di errore

Distribuzione  
eterogenea  
del contaminante



Rappresentatività

- alto numero di campioni incrementali
- scelta dei punti di campionamento
- adeguata grandezza del campione globale



### Frequenza di campionamento per partite in sacchi o confezioni singole

$$\frac{\text{Peso partita (kg)} \times \text{Peso campione elementare (kg)}}{\text{Peso campione globale (kg)} \times \text{Peso imballaggio (kg)}}$$

Esempio: 200 sacchi da 5 kg

Il peso partita della partita è 1000 kg, 40 campioni elementari da 0,3 kg, il campione globale è  $40 \times 0,3 = 12$  kg

$$\text{frequenza di campionamento} = \frac{1000 \text{ kg} \times 0,3}{12 \text{ kg} \times 5 \text{ kg}}$$

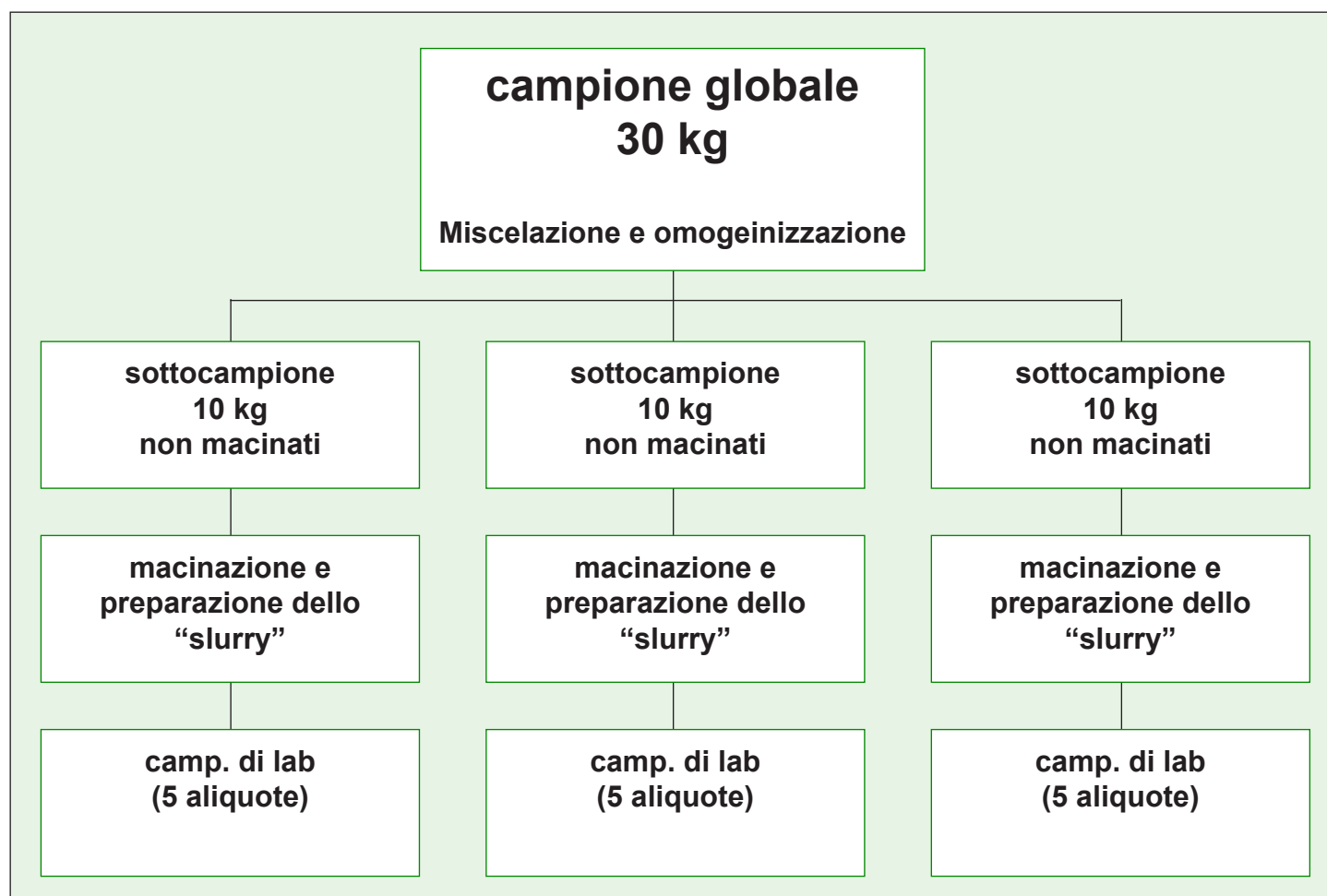
**Partite**  
**< 15 tonnellate**

Peso partita	numero campioni
≤ 0.1	10
< 0.1 - ≤ 0.2	15
< 0.2 - ≤ 0.5	20
< 0.5 - ≤ 1.0	30
< 1.0 - ≤ 2.0	40
< 2.0 - ≤ 5.0	60
< 5.0 - ≤ 10.0	80
< 10.0 - ≤ 15.0	100

**Schema di campionamento**  
**Campione elementare da 300 g - Tabella 2**

Prodotto	Peso del lotto (t)	Peso (t) o numero delle sottopartite	Numero di campioni elementari	Campione globale in kg
Fichi secchi ed altra frutta secca ed essiccata	≥ 15	15 - 30 t	100	30
	< 15	-----	10 - 100*	3 - 30
Arachidi, pistacchi, noci brasiliane ed altre noci	≥ 500	100 t	100	30
	< 25 ≤ 500	5 sottopartite	100	30
	≥ 15 < 125	25 t	100	30
	< 15	-----	10 - 100*	3 - 30
Cereali	≥ 1500	500 t	100	30
	> 300 < 1500	3 sottopartite	100	30
	≥ 50 ≤ 300	100 t	100	30
	< 50	-----	10 - 100*	1 - 10

**Schema di campionamento**





## *Latte e derivati*

### **Latte**

si opera secondo D.M. 26/03/92  
 campioni elementari  $\geq 5$   
 peso campione globale  $\geq 0,5$  kg o L

### **Prodotti lattiero caseari**

si opera secondo D.M. 08/11/89  
 campioni elementari  $\geq 5$

## *Preparazione del campione*

*I limiti di regolamento (CE) n° 1525/98 si applicano alla parte commestibile*

### **Per i prodotti con guscio**

- Sgusciare tutti i campioni di laboratorio
- Macinare il frutto intero e calcolare il rapporto ponderale frutto / guscio

## *Preparazione del campione (ISS)*

Materiale da saggio	Tempo di sbucciatura	Rapporto ponderale	Rapporto nello slurry	Tempo di preparazione dello slurry
Pistacchi	60 minuti per 1 kg	1 : 0,9 frutto / guscio	1 : 1,3	60 minuti
Arachidi con guscio	30 minuti per 1 kg	1 : 0,4 frutto / guscio	1 : 2,2	60 minuti
Arachidi senza guscio			1 : 1,2	45 minuti
Noci brasiliane	30 minuti per 1 kg	1 : 1,27 frutto / guscio	1 : 1	45 minuti

## Associazione Regionale Allevatori della Sardegna

### *I nostri uffici*

#### **Direzione di Cagliari**

Via Cavalcanti, 8 - 09128 Cagliari  
Tel. 070 40861 Fax 070 497038  
e-mail: [direzione@ara.sardegna.it](mailto:direzione@ara.sardegna.it)

#### **Ufficio tecnico - Sede Centrale**

Via Cavalcanti, 8 - 09128 Cagliari  
Tel. 070 4086218 Fax 070 497038  
e-mail: [ufficio\\_tecnico@ara.sardegna.it](mailto:ufficio_tecnico@ara.sardegna.it)

#### **Laboratorio Regionale Analisi**

Loc. Palloni - Nuraxinieddu (OR) - 09170 Oristano  
Tel. 0783 28300 Fax 0783 328345  
e-mail: [laboratorio@ara.sardegna.it](mailto:laboratorio@ara.sardegna.it)

#### **Piano Assistenza Tecnica - Sede di Cagliari**

Loc. Is Coras - 09028 Sestu (CA)  
Tel. 070 2310043 Fax 070 261728  
e-mail: [patca@ara.sardegna.it](mailto:patca@ara.sardegna.it)

#### **Centro Elaborazione Dati - Sede Centrale**

Via Cavalcanti, 8 - 09128 Cagliari  
Tel. 070 4086207 Fax 070-497038  
e-mail: [ced@ara.sardegna.it](mailto:ced@ara.sardegna.it)

#### **Piano Assistenza Tecnica - Sede di Nuoro**

Via Alghero, 6 - 08100 Nuoro  
Tel. 0784 204365 Fax 0784 205219  
e-mail: [patnu@ara.sardegna.it](mailto:patnu@ara.sardegna.it)

#### **Piano Assistenza Tecnica - Sede Centrale**

Via Cavalcanti, 8 - 09128 Cagliari  
Tel. 070 4086220 Fax 070 497038  
e-mail: [pat@ara.sardegna.it](mailto:pat@ara.sardegna.it)

#### **Piano Assistenza Tecnica - Sede di Oristano**

Loc. Palloni - Nuraxinieddu (OR) - 09170 Oristano  
Tel. 0783 33157 Fax 0783 329006  
e-mail: [pator@ara.sardegna.it](mailto:pator@ara.sardegna.it)

#### **Amministrazione - Sede Centrale**

Via Cavalcanti, 8 - 09128 Cagliari  
Tel. 070 4086213 Fax 070 497038  
e-mail: [amministrazione@ara.sardegna.it](mailto:amministrazione@ara.sardegna.it)

#### **Piano Assistenza Tecnica - Sede di Sassari**

Via E.Lussu, 7 - 07100 Sassari  
Tel. 079 237502 Fax 079 236263  
e-mail: [patss@ara.sardegna.it](mailto:patss@ara.sardegna.it)

Se avete problemi o quesiti da sottoporre ai nostri tecnici, il vostro giornale sarà lieto di darvi risposte puntuali. La corrispondenza deve essere così indirizzata: Ara, Associazione regionale allevatori c/o redazione *L'allevatore sardo*, via Cavalcanti 8 - 09128 Cagliari. Formulate quesiti chiari e brevi.

#### **Hanno collaborato a questo numero:**

Marino Contu, direttore Ara; Antonio Caria, direttore Laboratorio Aras; Cristiana Cicalò, microbiologa Laboratorio Aras; In redazione Stefano Giua e Caterina Scano coordinatori tecnici Ara.

#### **Direttore responsabile**

Laura Mameli

#### **Direttore editoriale**

Antonio Pilia

#### **Redazione:**

via Cavalcanti 8 - 09131 Cagliari

Tel e fax: 070 40861

[arasar@tiscalinet.it](mailto:arasar@tiscalinet.it) [www.ara.sardegna.it](http://www.ara.sardegna.it)

#### **Stampa:**

Litotipografia Trudu, Cagliari

Reg. Trib. Cagliari n. 44 del 20/12/2000