

Determinazione dell'aflatossina M1 nei prodotti lattiero-caseari

Test lateral flow ed Elisa sono strumenti fondamentali per caratterizzare la contaminazione da micotossine dei lotti di latte in ingresso dello stabilimento, permettendo di verificare rapidamente la loro conformità alla normativa vigente

Per la presenza di aflatossina M1, l'attuale legislazione europea pone un limite di 50 ppt nel latte e di 25 ppt nelle formulazioni a base latte per neonati.

Negli Stati membri sono in vigore limiti e frequenze di controllo differenti in merito alla ricerca di tale micotossina. In Italia, in particolare, la legge prevede di sottoporre a controllo ogni singola cisterna per evitare che le aziende di trasformazione ne accettino anche una sola con latte contaminato. Al fine di raggiungere tale scopo vengono impiegati test rapidi, seguiti da un test ELISA quale metodo di conferma; qualora vengano riscontrati campioni "dubbi" vengono effettuate ulteriori indagini mediante HPLC o LC/MS-MS. In tale contesto, il Controllo Qualità decide se il latte debba essere accettato o respinto. In alcuni casi, il piano d'analisi può prevedere che i campioni vengano raccolti e accumulati (per es. 10-15), quindi analizzati con metodo ELISA, in questo caso, il latte contaminato risulterebbe già accettato, stoccato, eventualmente diluito con latte non contaminato. Nel caso di valori non determinabili mediante tecnica ELISA, si ricorre ad analisi cromatografica.

I diversi metodi di analisi

Per l'analisi dell'aflatossina M1 si possono utilizzare di routine tre metodi di analisi: la tecnica lateral-flow, impiegata nei test rapidi; il metodo ELISA; la cromatografia. Ciascun metodo presenta vantaggi e svantaggi. Per esempio, la tecnica ELISA è nettamente il metodo migliore per l'analisi di un numero elevato di campioni in termini di costo,



accuratezza e tempo. Ogni piastra ELISA, dotata di 48 o 96 pozzetti, permette di analizzare altrettanti campioni contemporaneamente, risparmiando tempo e denaro ma senza penalizzare l'accuratezza dell'analisi. Anche le tecnologie lateral flow sono di ampio impiego nel settore lattiero-caseario nonostante, tradizionalmente siano considerate poco stabili e poco accurate, pertanto utilizzate quale metodo d'analisi complementare. Tuttavia, grazie alle recenti innovazioni tecnico/scientifiche, si è riusciti a colmare le lacune di questo metodo analitico. Mediante un nuovo approccio alla tecnica lateral-flow, la tecnologia Symmetric ha

rivoluzionato la natura dei test rapidi consentendo di colmare il gap che esisteva con le tecnologie ELISA e HPLC. Sensibilità, accuratezza ma soprattutto stabilità e riproducibilità sono alcune delle caratteristiche che i lateral-flow sticks Symmetric (Prognosis Biotech Ltd), distribuiti in Italia da Sacco Srl, sono in grado di garantire.

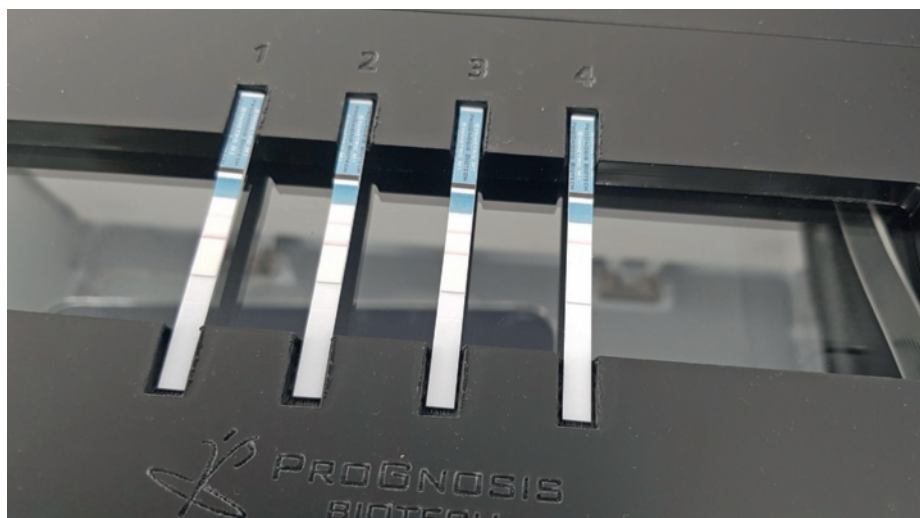
Determinare la presenza di aflatossina M1 in latte misto

Un problema importante, per gli operatori del settore lattiero caseario è quello di determinare aflatossina M1 nel latte di specie animali diverse. Nell'area mediterranea il



Tabella comparativa tra le varie tecniche per la determinazione di aflatoxina M1 in prodotti lattiero-caseari

| | | Sensibilità | Tempo necessario | Specificità | Attrezzatura richiesta | Costo per test |
|---------------------|---|-------------|------------------|---|------------------------|----------------|
| Lateral Flow Sticks | Symmetric M1 | 2 ppt | rapido (10 min.) | Nessuna cross-reattività con aflatoxine | Laboratorio di base | €€ |
| ELISA | Bio-Shield Aflatoxin M1 Baby Food (M1 BF) ELISA kit | 1.6 ppt | 75 min. | Nessuna cross-reattività con aflatoxine | Laboratorio di base | €€ |
| ELISA | Bio-Shield Aflatoxin M1 Fast ELISA kit | 2 ppt | 30 min. | Nessuna cross-reattività con aflatoxine | Laboratorio di base | €€ |
| Cromatografia | HPLC, LC/MS-MS | 2 ppt | 30-60 min | Nessuna cross-reattività con aflatoxine | Laboratorio high tech | €€€€€ |



Carta d'identità

Prognosis Biotech è un'azienda Greca con sede a Larissa. Studia, progetta e produce i kit ELISA della serie Bio-Shield e i test rapidi lateral-flow sticks della serie Symmetric, per rilevare e quantificare la presenza di micotossine in latte, alimenti e mangimi oltre che per rilevare l'eventuale adulterazione del latte vaccino con latte di specie diverse. Partecipa mensilmente ai Proficiency Test FAPAS, AIA, BIPEA (Francia) e DRRR (Germania), con un ruolo attivo anche nelle conferenze annuali di IDF, RAFA (Recent Advances on Food Analytics) e AOAC presentando i nuovi sviluppi delle tecnologie ELISA e lateral flow.

latte impiegato dall'industria lattiero-casearia proviene tipicamente da 3 specie (vacca, capra, pecora) a cui si aggiunge anche la bufala nel caso dell'Italia. Poiché latti di capra, pecora e bufala hanno contenuto in grasso diverso (molto più alto rispetto alla concentrazione nel latte vaccino), dovrebbero essere trattati e analizzati con modalità diverse per ricavarne risultati accurati. La tecnologia Symmetric ha superato tale limite: per la prima volta i latti di capra, pecora e bufala possono essere analizzati con la stessa procedura prevista per l'analisi del latte vaccino con la garanzia di risultati estremamente accurati.

© RIPRODUZIONE RISERVATA

L'aflatoxina M1

L'aflatoxina M1 è una delle più potenti sostanze cancerogene conosciute ma al tempo stesso è una delle più trascurate. La cancerogenicità, ufficialmente riconosciuta, ne fa uno dei temi più caldi per i laboratori di analisi di prodotti lattiero-caseari. Le peculiarità del clima dell'Italia – sole, umidità, ampio range di temperatura – svolgono un ruolo fondamentale relativamente alla possibilità di sviluppo di funghi e muffe

sulle derrate alimentari. Di particolare interesse, nel contesto agroalimentare, è la muffa *Aspergillus flavus* che, in condizioni di stress, secreta micotossine: aflatoxine B1, B2, G1, G2. L'aflatoxina presente con maggiore frequenza in natura è la B1 che rappresenta, mediamente, tra l'85 e il 95% di tutte le aflatoxine riscontrate. Il mais, uno dei principali mangimi impiegati in Europa è estremamente soggetto

allo sviluppo di muffe e di conseguenza anche alla presenza di aflatoxina B1, così pure il grano e altri cereali che rappresentano la base della razione alimentare degli animali da latte. Come conseguenza, animali quali vacche, capre e pecore, alimentati con mangime contaminato da aflatoxina B1, metabolizzano la tossina trasformandola in aflatoxina M1, secreta quindi con il latte.