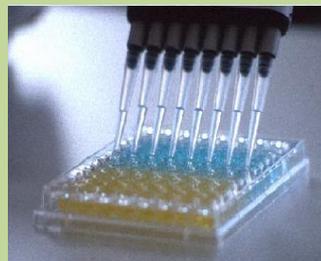


# Metodi rapidi per la determinazione di micotossine lungo la filiera cerealicola:

**Veronica M.T. Lattanzio**

*veronica.lattanzio@ispa.cnr.it*



- ✓ La problematica delle micotossine è diventata uno degli aspetti che più influenzano i **mercati cerealicoli**.
- ✓ L'entrata in vigore di **Regolamenti comunitari** e più generalmente i requisiti richiesti nel **settore della contrattualistica**, che vincolano i lotti a contenuti definiti di questi contaminanti, rende necessario effettuare **numerosi controlli per verificare la conformità** di cereali e relativi prodotti di trasformazione

**Regolamenti (CE) N. 1181/2006 e 1126/2007**  
**Raccomandazione (EU) N. 165/2013**

limiti massimi ammissibili di aflatossine, ocratossina A e tossine di *Fusarium* – livelli indicativi di tossine T-2 e HT-2 in cereali e prodotti derivati

## **Regolamento n. 178/2002/CE (*General Food Law*)**

“che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l’Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare”.

**Stabilisce la responsabilità primaria dell'Operatore del Settore Alimentare (OSA)** per ogni prodotto da lui realizzato, trasformato, importato, commercializzato o somministrato.

La sicurezza degli alimenti è garantita sia dall'Operatore del Settore Alimentare, mediante l'adozione di **piani di autocontrollo aziendale** basati sul sistema HACCP, sia dal **sistema dei controlli** (pubblici) ufficiali.

## **Migliorare l'efficienza e l'affidabilità dei controlli di conformità ai limiti massimi ammissibili**

### **Sviluppo e validazione di metodiche per lo screening rapido della contaminazione da micotossine**

Razionalizzare gli interventi

Minimizzare tempi e costi dell'analisi

Ridurre/risolvere controversie

⇒ **azioni integrate** degli enti di ricerca con PMI sia del settore della diagnostica che del settore agroalimentare



# METODI RAPIDI e/o di SCREENING

**Screening** della presenza di una micotossina rispetto ad una **concentrazione bersaglio (STC)**

**Campione negativo:** viene classificato come tale e NON ulteriormente analizzato

**Campione sospetto (positivo):** necessita di analisi con un metodo di conferma (identificazione e analisi quantitativa)

- ✓ Analisi di un **elevato numero di campioni** al giorno
- ✓ **Rapidità** della risposta (pochi minuti)
- ✓ **Costi contenuti**
- ✓ Limitato utilizzo di **solvente organico** ed altri **reagenti tossici** difficili da smaltire
- ✓ Basso livello di **esperienza tecnica** dell'operatore
- ✓ Possibilità di utilizzo ***in situ***
  
- ✓ Possibilità di applicazione a **diverse matrici**
- ✓ **Sensibilità** sufficiente rispetto ai livelli di interesse

# ANALISI CON METODI RAPIDI



***raccolta***

**trasporto**



***stoccaggio***



***campo***



Impatto sui **costi**  
del processo produttivo  
-**Costi diretti**  
(consumabili, personale)  
-**Costi indiretti**  
(tempo, smaltimento dei  
rifiuti)



***Prodotti  
trasformati***

# Linee Guida per il controllo delle micotossine nella granella di mais

## Coltivazione e Raccolta

### Segregazione all'accettazione

Pulizia meccanica post-essiccazione

Pulizia dei locali di stoccaggio

Refrigerazione e ventilazione

Pulizia con la selezionatrice ottica

Movimentazione della massa e pulizia della granella in fase di stoccaggio

Trattamento insetticida e rodenticida durante lo stoccaggio

### Monitoraggio delle condizioni di stoccaggio

Sequenza di svuotamento delle strutture

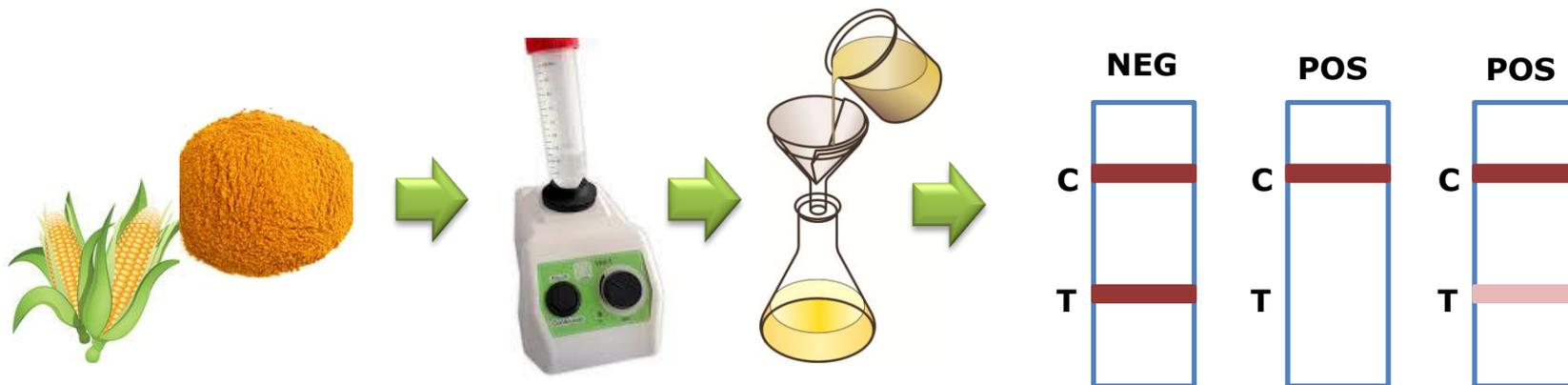
Eeguire la segregazione in funzione dell'esito dei controlli della contaminazione. I controlli possono essere di tipo:

- visivo
- **strumentale: valutare il livello di tossine mediante strip-test semi quantitativi**

....  
**Monitorare il contenuto di micotossine con campionamenti periodici.**

## Conservazione

# PROTOCOLLO di ANALISI mediante STRIP TEST *(all in one)*



## Campione negativo:

Linea di Controllo (C) e  
Linea Test (T) colorate

## Campione positivo

(contaminato): Linea di  
Controllo (C) colorata, Linea  
Test (T) assente o leggermente  
colorata

**L'uso di un lettore fotometrico permette l'analisi quantitativa**

Linee guida **armonizzate** e **standardizzate** per la valutazione dei metodi rapidi da utilizzarsi per il controllo ufficiale o per la gestione dei processi produttivi.  
⇒ aiutano l'operatore nella **scelta della metodica più appropriata in relazione all'uso previsto**.

## Regolamento (UE) 519/2014

Prescrizioni specifiche per i metodi di screening per micotossine



17.5.2014

EN

Official Journal of the European Union

COMMISSION REGULATION (EU) No 519/2014

of 16 May 2014

amending Regulation (EC) No 401/2006 as regards methods of sampling of large lots, spices and food supplements, performance criteria for T-2, HT-2 toxin and citrinin and screening methods of analysis

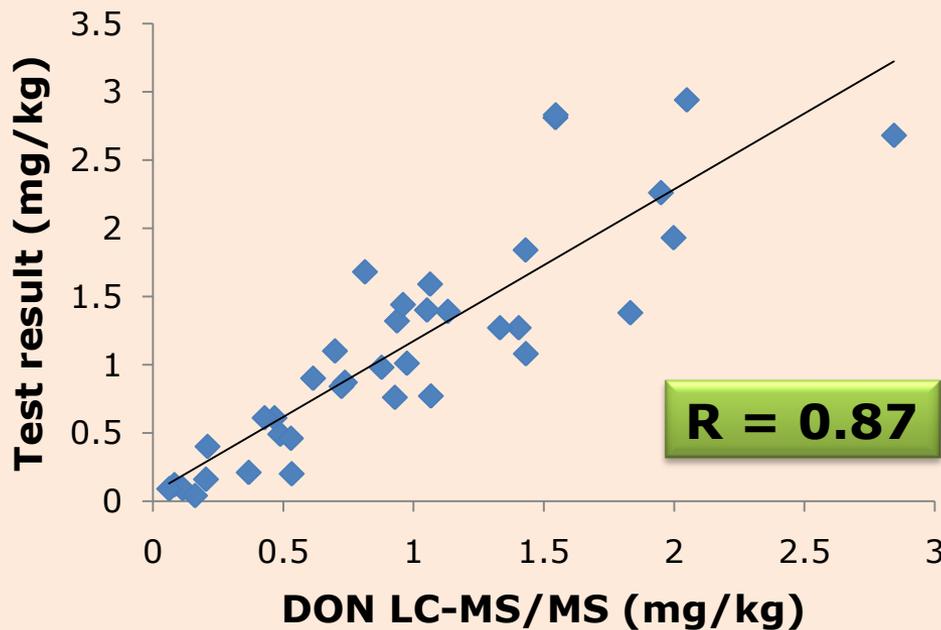
(Text with EEA relevance)

This concept is described in detail with an example in Analytical and Bioanalytical Chemistry DOI 10.1007/s00216-013-6922-1.

**Experimental design for in-house validation of a screening immunoassay kit. The case of a multiplex dipstick for *Fusarium* mycotoxins in cereals**

Veronica M. T. Lattanzio • Christoph von Holst •  
Angelo Visconti

# Determinazione del **DEOSSINIVALENOLO** in **FRUMENTO** (I)



Correlazione tra i risultati ottenuti mediante strip test e metodo di conferma LC-MS/MS (n = 47)

**DON:**

0.06 – 2.8 mg/kg

**3/15 AcDON:**

n.d. – 0.172 mg/kg

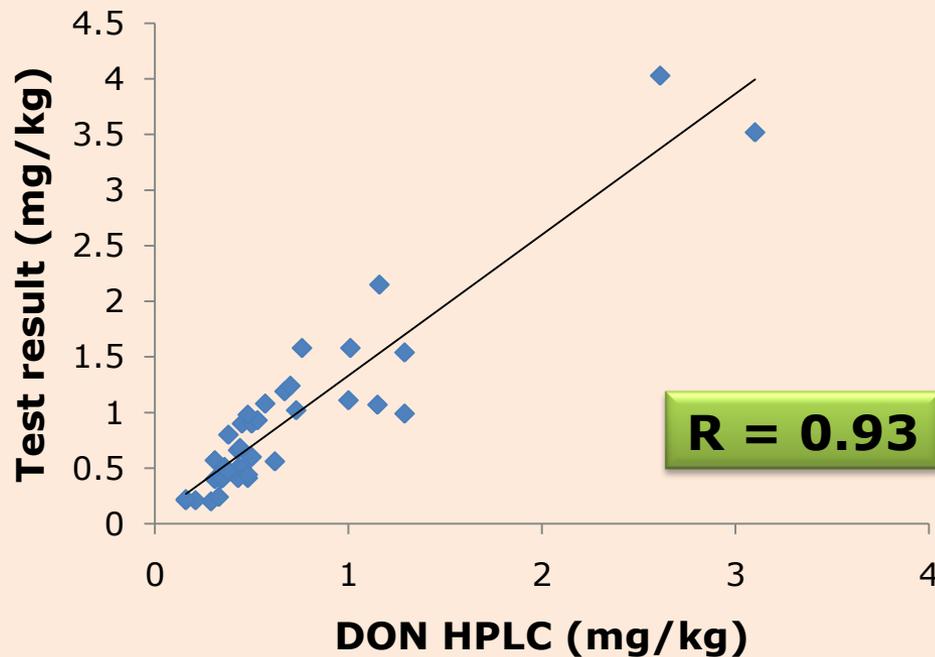
**DON-3G:**

n.d. – 0.412 mg/kg

**Numero di FALSI NEGATIVI: 0**

Criterio di accettabilità  $\leq 5\%$

# Determinazione del **DEOSSINIVALENOLO** in **FRUMENTO** (II)

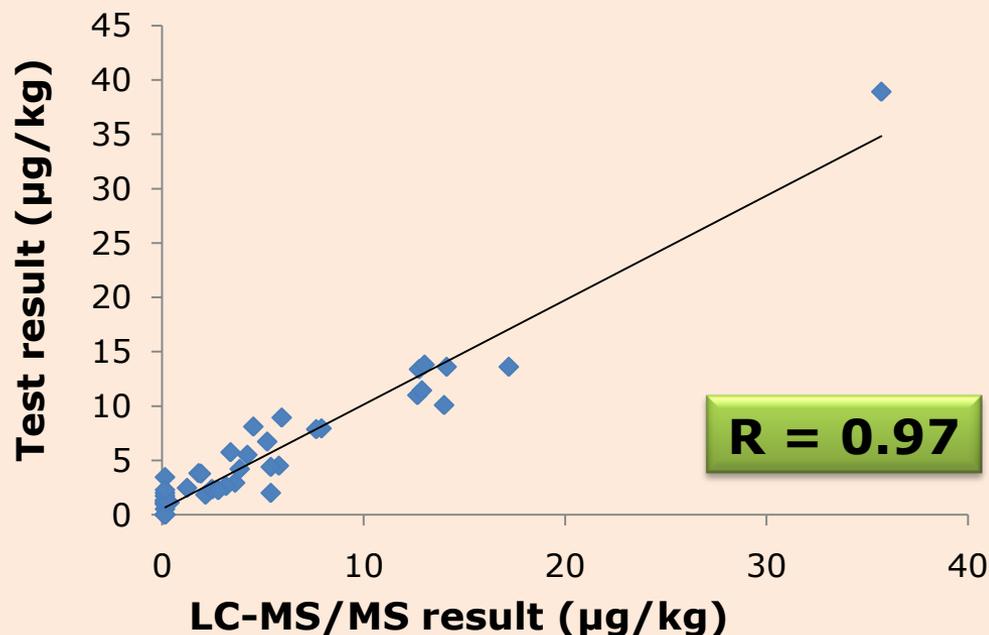
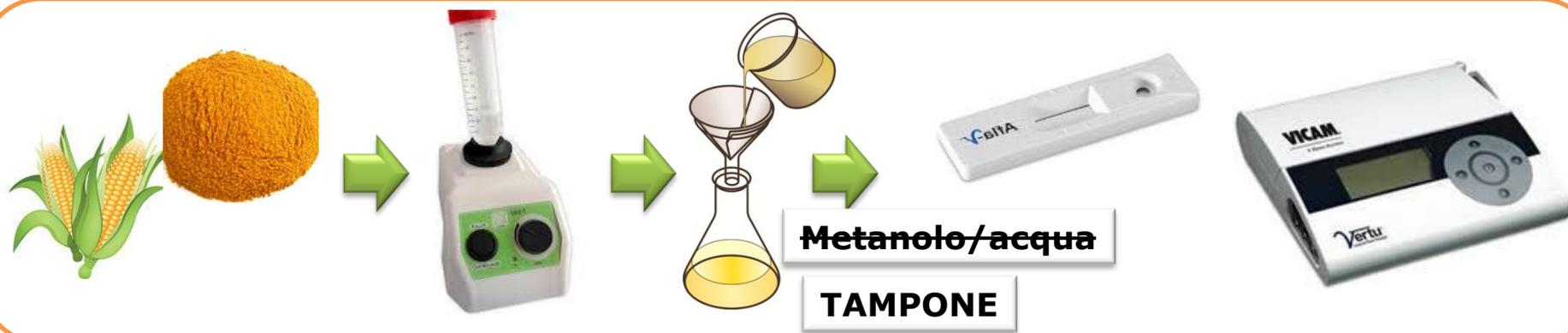


Correlazione tra i risultati ottenuti mediante strip test e metodo di conferma HTLC-UV (n = 38)

**DON:**  
n.d. – 3.10 mg/kg

**Numero di FALSI NEGATIVI: 0**  
Criterio di accettabilità  $\leq 5\%$

# Determinazione dell'**AFLATOSSINA B1** in **MAIS**

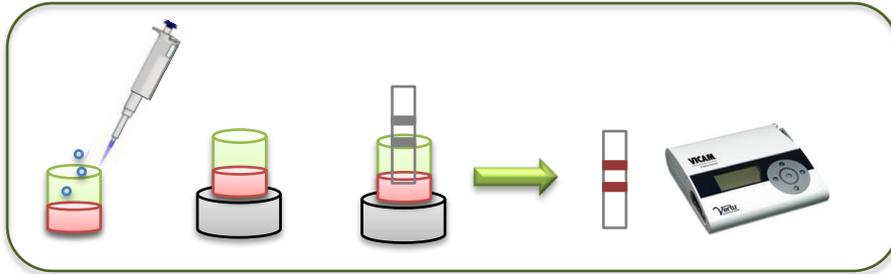


Correlazione tra i risultati ottenuti mediante strip test e metodo di conferma AOAC 991.31 (n = 48)

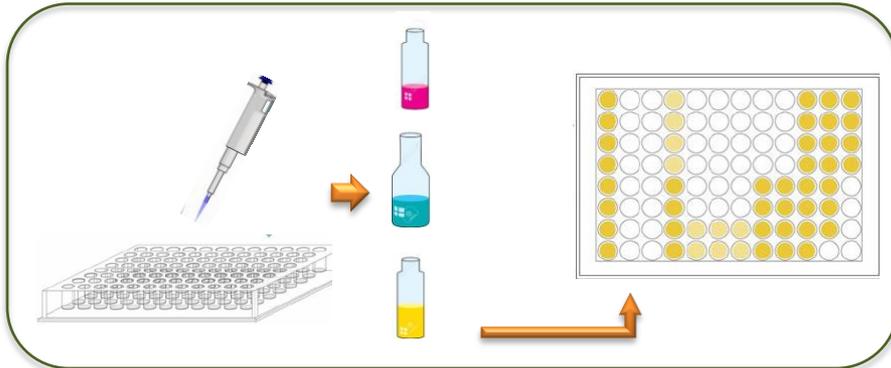
AFB<sub>1</sub> n.d. – 36  $\mu\text{g}/\text{kg}$

**Numero di FALSI NEGATIVI: 0**  
Criterio di accettabilità  $\leq 5\%$

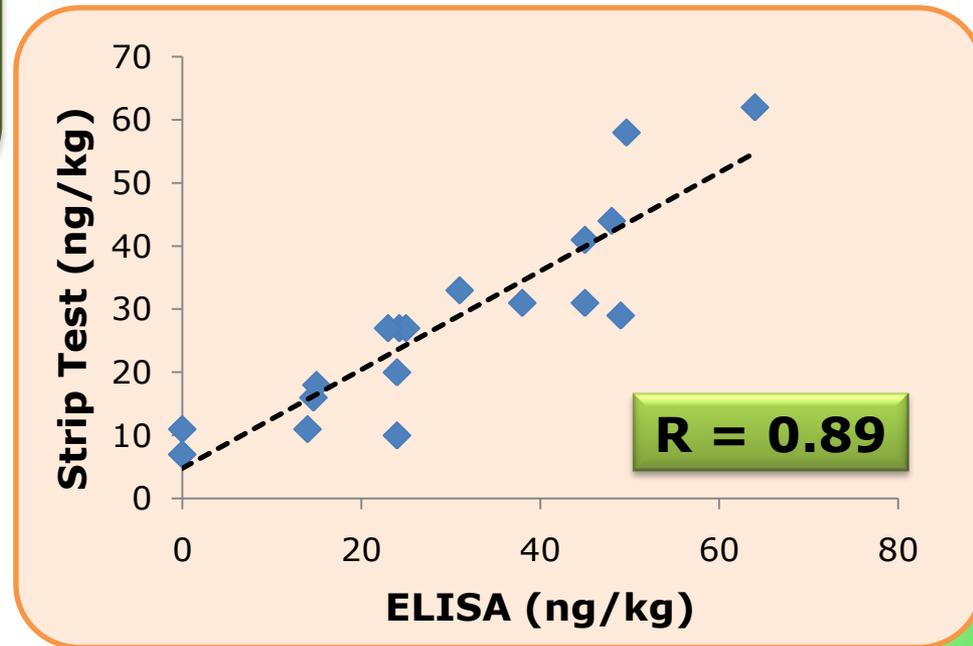
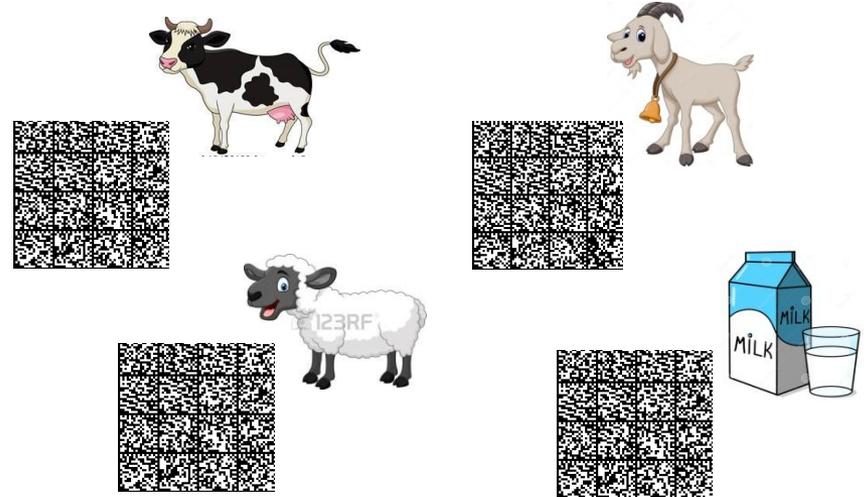
# Determinazione dell'**AFLATOSSINA M1** nel **LATTE**



**Strip Test**



**ELISA**



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO  
SPERIMENTALE  
DELL'UMBRIA E DELLE MARCHE  
"TOGO ROSATI"

# Strip test **MULTIPLEX** per analisi rapida e simultanea di diverse micotossine



## 4 myco sensor

Multiple strip test detecting Deoxynivalenol, Zearalenone, Fumonisin FB1/FB2 and T-2/HT-2 mycotoxins in one single test

**MULTIPLEX:** 6 micotossine analizzate in 1 test

**VELOCE:** 8 campioni analizzati in 1 ora

**SENSIBILE:** rivelazione delle micotossine a livelli prossimi ai limiti di legge

**SEMPLICE:** 5 min per la preparazione del campione

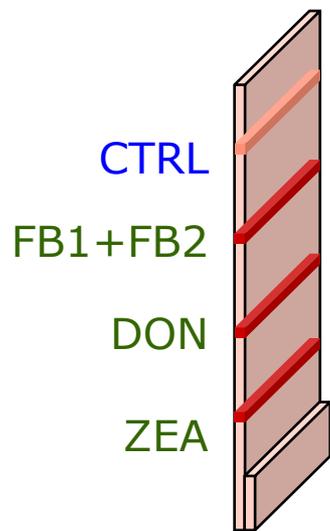
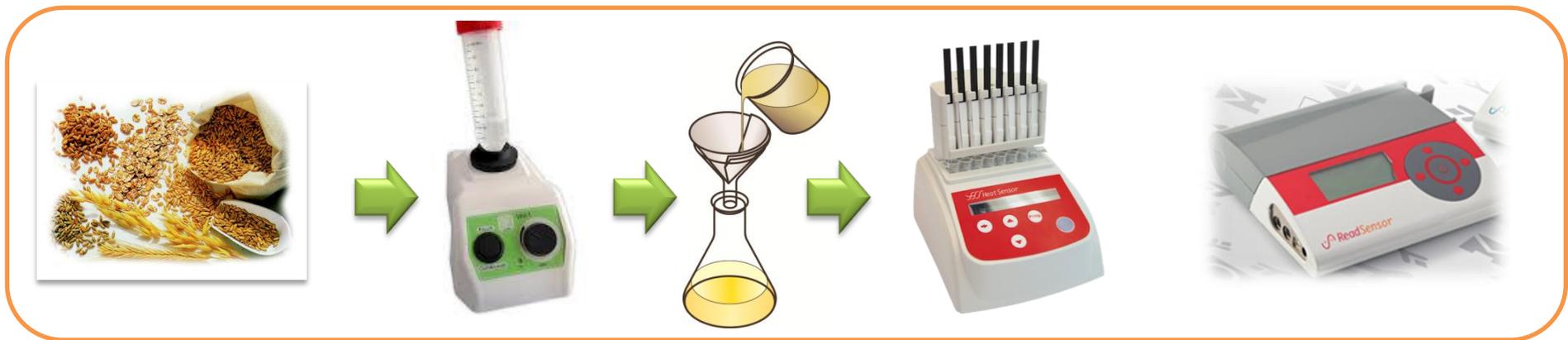


Lattanzio et al, *Analitica Chimica Acta*, 2012, 718, 99-108

Lattanzio et al, *Anal. Bioanal. Chem.* 2013, 405:7773

Lattanzio et al, *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2014, 6(3), 299-307

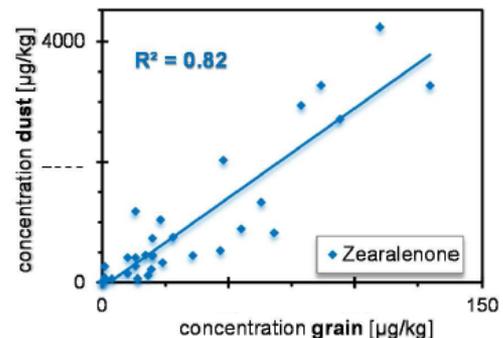
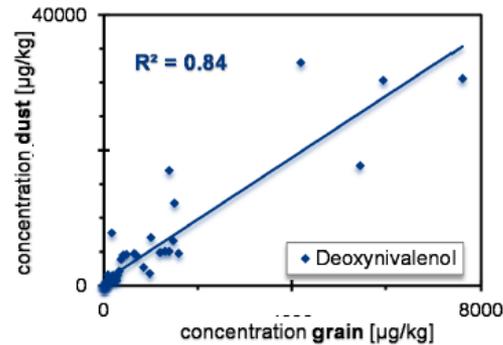
# Strip test **MULTIPLEX** per analisi rapida e simultanea di diverse micotossine di *Fusarium*



**BOORTMALT**  
➤ MASTERS OF MALT



# Metodi rapidi per la determinazione di micotossine nella granella basati sul **CAMPIONAMENTO delle POLVERI**



[www.eurofins.com](http://www.eurofins.com)

# GRAZIE!



## ISM – MYCOKEY Workshop - Training Course

*"Rapid Methods for Mycotoxin Detection in the Food Chain"*  
October 9-13, 2017 - Bari, Italy

Antonio F. Logrieco  
Michelangelo Pascale  
Vincenzo Lippolis  
Annalisa De Girolamo  
Biancamaria Ciasca  
Nataschia Guarducci



Christoph von Holst



Ivan Pecorelli



Noan Nivarlet  
Benoit Granier



Lingyun Chen  
Janmin Liu  
Matteo Luppi



Sarah de Saeger



Mareike Reikel  
Scarlet Biselli



Tom Bryan

