

CONTAMINAZIONE DA MICOTOSSINE IN AMBITO AGRO-ZOOTECNICO

INAIL

Misure di prevenzione per la riduzione
del rischio

2020



COLLANA **SALUTE E SICUREZZA**

CONTAMINAZIONE DA MICOTOSSINE IN AMBITO AGRO-ZOOTECNICO

INAIL

Misure di prevenzione per la riduzione
del rischio

2020

Pubblicazione realizzata da

Inail

Direzione regionale Campania

Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Dipartimento di Medicina veterinaria e produzioni animali

Autori

Michele del Gaudio¹, Carmine Piccolo¹, Maria Carmela Ferrante²

Collaborazione

Angela Nicotera³

¹ Inail, Unità Operativa Territoriale di Avellino

² Università degli Studi di Napoli "Federico II" Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali. Unità di Tossicologia

³ Inail, Direzione regionale Campania

per informazioni

Inail - Direzione regionale Campania

via Nuova Poggioreale Ang. San Lazzaro - 80143 Napoli

campania@inail.it

www.inail.it

© 2020 Inail

isbn 978-88-7484-628-3

Gli autori hanno la piena responsabilità delle opinioni espresse nelle pubblicazioni, che non vanno intese come posizioni ufficiali dell'Inail.

Le pubblicazioni vengono distribuite gratuitamente e ne è quindi vietata la vendita nonché la riproduzione con qualsiasi mezzo. È consentita solo la citazione con l'indicazione della fonte.

Presentazione

Il lavoro è il risultato del progetto di prevenzione “Definizione e divulgazione di una buona prassi di lavoro per la riduzione del rischio derivante dalla contaminazione di micotossine in ambito agro-zootecnico”, realizzato a seguito di avviso pubblico per la presentazione di progetti diretti alla prevenzione della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro.

Il progetto, presentato dal Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali dell’Università degli Studi di Napoli Federico II e realizzato in collaborazione con la Direzione regionale Inail Campania, ha esaminato i rischi derivanti dall’esposizione a micotossine dei lavoratori del settore agro-zootecnico.

I micromiceti e le micotossine (metaboliti fungini tossici), sono contaminanti naturali rinvenibili frequentemente nei prodotti dell’agricoltura. Essi possono costituire un’importante causa o concausa determinante l’insorgenza o la progressione di patologie respiratorie (sindrome da polveri organiche tossiche, effetti irritativi, tosse, asma, bronchiti croniche, neoplasie).

Per aumentare la percezione del rischio i risultati dello studio, contenuti in questa pubblicazione, sono stati condivisi, attraverso specifici seminari, con gli studenti del Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzione Animali, gli studenti della scuola secondaria di II° grado ad indirizzo tecnico agrario, con gli ordini professionali degli agronomi e dei periti agrari e con gli iscritti alle associazioni di categoria a cui fanno capo gli imprenditori agricoli e zootecnici.

L’importazione di prodotti agricoli potenzialmente contaminati da miceti e micotossine da paesi anche lontanissimi e con modalità di trasporto che possono favorire lo sviluppo dei contaminanti, richiede una maggiore informazione degli operatori che manipolano le merci dal luogo di produzione fino all’utilizzo finale.

Daniele Leone
Direttore regionale

Premessa

Le patologie respiratorie professionali o occupazionali sono condizioni patologiche causate o aggravate da sostanze a cui si è esposti sul posto di lavoro. L'impatto di tali patologie è sottovalutato a causa della non emersione del problema nella sua dimensione reale. Ad esempio, è probabile che una patologia professionale ad andamento cronico si manifesti negli anziani non più in età lavorativa, ma come conseguenza diretta dell'alta frequenza di esposizione durante l'impiego.

L'asma rappresenta la patologia professionale più diffusa. Si stima che una riacutizzazione grave su sette sia associata all'esposizione a sostanze nocive sul posto di lavoro; inoltre, si ritiene che tali esposizioni siano responsabili di circa il 15% di tutti i casi di asma negli adulti.

Sintomi riconducibili ad uno stato asmatico e a patologie dell'apparato respiratorio già esistenti possono peggiorare o insorgere a causa di un ambiente lavorativo non idoneo per cui il controllo del luogo di lavoro e della corretta esecuzione delle procedure operative rappresentano condizioni di particolare rilievo per impedire il peggioramento o prevenire questo genere di patologie.

Lesioni acute da inalazione possono verificarsi nel corso di un incidente, nel quale si verifica un'improvvisa esposizione su larga scala a sostanze nocive; tali incidenti possono comportare la liberazione di prodotti chimici, incendi, esplosioni di gas o l'esposizione ad un elevato quantitativo di polveri. Altre cause di lesioni acute delle vie respiratorie possono essere quelle correlabili ad infezioni professionali nel settore agro-zootecnico imputabili ad es. a Tubercolosi e Febbre Q.

La Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è principalmente dovuta al fumo, tuttavia alcuni studi suggeriscono che il 15-20% dei casi di BPCO siano causati almeno in parte da alcune sostanze o agenti riscontrabili sul posto di lavoro (polveri minerali, gas irritanti o vapori presenti nell'aria). L'alveolite allergica estrinseca e altre interstiziopatie polmonari possono essere causate da reazioni allergiche verso eterogenei contaminanti di origine chimica o microbiologica presenti nell'ambiente lavorativo.

È in continua crescita il numero di sostanze xenobiotiche potenzialmente associate all'asma e altre patologie delle vie aeree (proteine sintetiche componenti dei tessuti, detergenti e colle, agenti metallici impiegati in impianti industriali, sostanze usate in vernici e spray, ecc.), tra le quali si includono anche proteine di origine animale e vegetale.

L'esposizione ai micromiceti e alle micotossine (metaboliti fungini tossici di origine vegetale), rinvenibili nei prodotti dell'agricoltura, può costituire un'importante causa o concausa determinante l'insorgenza e/o la progressione delle patologie respiratorie nel settore agro-zootecnico.

Tuttavia, mentre sono noti gli effetti dei funghi del genere *Stachybotrys* e delle relative micotossine sintetizzate sulla salute dei residenti in edifici danneggiati dall'acqua, e sono state fatte molteplici correlazioni tra esposizione a polveri di granaglie contaminate da micotossine e problemi respiratori nei lavoratori agricoli, non sono stati condotti, a tutt'oggi, studi sistematici mirati a definire le soglie di tossicità per inalazione e il ruolo di questi contaminanti nelle problematiche respiratorie di origine occupazionale. Allo stesso tempo non sono ancora stati stabiliti valori standard di riferimento anche occupazionali per tutelare la salute umana e per consentire un adeguato controllo dell'esposizione negli ambienti chiusi e aperti.

Per quanto riguarda i fattori di rischio professionali il dm del 9 aprile 2008 "Nuove tabelle delle malattie professionali nell'industria e nell'agricoltura" (Ministero del lavoro e della previdenza sociale di concerto con il Ministero della salute) inserisce sia l'alveolite allergica estrinseca con o senza evoluzione fibrotica (per lavorazioni che comportano esposizione a miceti quali penicilli e aspergilli attraverso la manipolazione e lo stoccaggio di granaglie e all'azione dell'acido solforico, acido nitrico, cemento, cadmio, leghe e composti, fusione del vetro, ecc.), sia l'asma con le sue conseguenze dirette (per esposizioni a miceti nella polvere di granaglie e/o farine e cereali oltre che a lavorazioni che espongono all'azione di aldeidi e derivati, cromo, nichel e vanadio e loro leghe e composti, ecc.) tra le malattie professionali riconosciute e indennizzabili dall'Inail.

Stabilire livelli di sicurezza nell'esposizione ad agenti contaminanti e suggerire buone prassi di lavoro rappresentano due fasi importanti e necessarie nel processo di valutazione della sicurezza del lavoratore anche considerando che le malattie occupazionali sono identificate, in linea di principio, come più facilmente prevenibili rispetto ad altre causate da fattori genetici, stile di vita o ambiente. Tale approccio, ha due ricadute fondamentali: la prima, diretta, è la tutela della salute del lavoratore; la seconda, indiretta, è il contributo alla riduzione della spesa pubblica sanitaria.

Indice

1. Le micotossine	9
2. Analisi del settore agro-zootecnico	11
2.1 Analisi del comparto produttivo in Italia e Campania	11
2.2 Analisi del riscontro di infortuni nei lavoratori del comparto agro-zootecnico con particolare riferimento all'incidenza di patologie respiratorie	18
3. Micotossine e micotossicosi	23
3.1 Fattori di crescita dei micromiceti e di sintesi delle micotossine, fonti	23
3.2 Tossicocinetica delle micotossine e principali micotossicosi di interesse medico e medico-veterinario	33
3.3 Buone pratiche agricole per la prevenzione e la riduzione della contaminazione da micotossine nei cereali	42
4. Le micotossicosi nel lavoratore del settore agro-zootecnico	50
4.1 Effetti tossici derivanti dall'esposizione per via inalatoria a micromiceti e micotossine	50
4.2 Esposizione alle micotossine e ai micromiceti del lavoratore nel settore agro-zootecnico	58
5. Misure di prevenzione per limitare l'esposizione dei lavoratori del settore agro-zootecnico alle micotossine e ai micromiceti	63
5.1 Attività che generano polveri	63
5.2 Condizioni di lavoro che riducono la formazione di polveri: uso dei DPI per limitare l'esposizione dei lavoratori del comparto agro-zootecnico alle micotossine	71
5.3 Dispositivi di protezione individuale delle vie respiratorie	72
5.4 Misure di protezione e prevenzione da adottare in base alle attività	74
6. Conclusioni	80
7. Bibliografia	83
7.1 Riferimenti scientifici	83
7.2 Immagini	88

1. Le micotossine

Le micotossine sono metaboliti secondari di ceppi tossinogeni di diversi generi e specie fungine, che crescono su numerose derrate d'origine vegetale consumate dagli animali e dall'uomo; possono essere contenute anche in alcuni prodotti ottenuti da animali (latte e formaggi, uova, carni), alimentati con mangimi contaminati. Il problema determinato dalla contaminazione da micotossine è un problema molto antico anche se in prima analisi può sembrare che origini dallo spinto sviluppo dell'industrializzazione agricola in quanto trattato e affrontato solo negli ultimi decenni. Tuttavia, si parla di ergotismo già nel Vecchio Testamento della Bibbia e gli storici ipotizzano che micotossine del *Fusarium* (T-2 e zearalenone) siano state la causa del declino degli Etruschi. Più recentemente, la misteriosa morte di archeologi dopo l'apertura di tombe egiziane è stata attribuita all'inhalazione di ocratossina A.

Le prime incerte associazioni tra generi alimentari contenenti metaboliti di funghi microscopici (muffe) e patologie di interesse medico e veterinario (per lo più coinvolgenti animali di allevamento) furono fatte però, solo alcuni anni dopo il riscontro di vere e proprie epidemie come quella che colpì tra il 1942 e il 1947, la popolazione rurale di diverse regioni sovietiche. L'epidemia ad esito spesso letale siglata ATA (Aleucosi Tossica Alimentare) accompagnata da intensa leucopenia, emorragie diffuse ed aplasia midollare, fu in seguito ricondotta all'assunzione di grano contaminato da tricoteceni. Agli inizi degli anni '60, si giunse alla conclusione che le aflatosine, prodotte dall'*Aspergillus flavus*, erano da ritenersi responsabili dell'insorgenza della cosiddetta "malattia X" che aveva prodotto la morte di oltre 100.000 tacchini in Inghilterra e di migliaia di anatrocchi in Uganda, in seguito all'assunzione di farina di arachidi contaminata. La scoperta di questi metaboliti tossici fungini ha indotto negli anni ad intensificare gli studi tesi alla comprensione degli intimi meccanismi alla base dell'azione tossica e all'identificazione di nuove micotossine, con il fine ultimo di monitorarne la presenza e limitarne gli effetti nocivi sulla salute umana ed animale. La sintomatologia clinica causata dall'ingestione di modeste e consistenti aliquote di micotossine è ormai ben definita per molte di esse e può essere caratterizzata principalmente da un'azione enterotossica, neurotossica, nefrotossica, epatotossica, osteotossica, e, negli animali, rallentamento dell'accrescimento ponderale, ridotta attività riproduttiva, morte. L'assunzione continuativa di aliquote minori induce un abbassamento delle difese immunitarie e una minore resistenza alle malattie infettive (associata nelle specie di interesse zoeconomico ad una minore resa produttiva). Va sottolineato che gli effetti immunotossici possono essere manifesti a dosi della tossina più basse di quelle che inducono evidenti sintomi

tipici della micotossicosi che, quindi, viene spesso sottostimata. È evidente, quindi, come le micotossine abbiano un rilevante impatto sull'economia causando ingenti perdite nel settore agricolo (produzione di derrate non idonee al consumo alimentare umano e animale) e zootecnico. Tale impatto negativo deriva sia da una riduzione delle derrate disponibili alla commercializzazione, in quanto i prodotti frequentemente non risultano conformi ai limiti imposti dalle leggi vigenti in materia di sicurezza alimentare, che da una aumentata mortalità animale.

I risvolti dell'immunodepressione legati al coinvolgimento della salute umana sono intuibili poiché l'aumentata esposizione alle infezioni degli animali da reddito conduce ad un'aumentata trasmissione animale-uomo di agenti patogeni e, ad una concentrazione superiore di residui di antibiotici nelle carni e nel latte come conseguenza dei trattamenti terapeutici adottati. L'ingestione o l'inalazione di micotossine e/o micromiceti da parte dell'uomo sia per cause ambientali che occupazionali (nei lavoratori del settore agro-zootecnico) possono direttamente determinare o contribuire all'insorgenza di patologie ad es. dell'apparato respiratorio o a disfunzioni del sistema immunitario incrementando la suscettibilità agli agenti infettivi e alle neoplasie. A tutt'oggi sono stati identificati oltre 200 composti. Per alcuni dei quali (Tabella 1.1) approfondite ricerche hanno chiarito il ruolo di specifiche interazioni molecolari nei meccanismi di tossicità, tuttavia il significato tossicologico per molti di essi non è stato ancora del tutto compreso così come vanno ancora definiti molti dei potenziali rischi per la salute dell'uomo e degli animali e vanno adottate idonee misure di prevenzione e precauzione tese al controllo dei metaboliti noti e di quelli tuttora emergenti.

Tabella 1.1 - Principali micotossine presenti nelle derrate alimentari e relativi funghi produttori

MICOTOSSINE	DERRATE	FUNGHI PRODUTTORI
Aflatossina B₁, B₂, G₁, G₂	Mais, arachidi, spezie, frutta secca	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
Aflatossina M₁	Latte, uova, formaggio	
Ocratossina A	Frumento, orzo, mais, caffè, vino, birra	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>
Deossinivalenolo	Frumento, mais, orzo	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>
Tossina T-2 e HT-2	Frumento, mais, orzo, segale	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i>
Zearalenone	Mais, frumento	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i>
Fumonisine	Mais, prodotti a base di mais	<i>Fusarium verticillioides</i> (<i>F. moniliforme</i>), <i>F. proliferatum</i>

2. Analisi del settore agro-zootecnico

2.1. Analisi del comparto produttivo in Italia e Campania

Il comparto sottoposto ad analisi è quello Ateco A 01 cioè, nell'ambito della sezione di attività economica Agricoltura, Silvicultura e Pesca, la divisione Coltivazioni Agricole e Produzione di Prodotti Animali, caccia e servizi connessi (Istat 2009, Classificazione delle attività economiche Ateco 2007 derivata dalla Nace Rev. 2 Metodi). I dati di infocamere evidenziano come tale comparto ha visto in Italia negli ultimi anni una progressiva, consistente riduzione del numero di aziende registrate che da 67.804 nel 2012 sono passate a 61.808 nel 2017 sebbene ci sia stato un lieve trend di aumento rispetto al 2016 (61.611 aziende registrate) (Tabella 2.1).

Tabella 2.1 - Numero di ditte in Italia per la sezione di attività economica. (Dati infocamere)

Settore Ateco A 01 Coltivazioni Agricole e Produzioni di Prodotti Animali, Caccia e servizi connessi		Registrate	Attive	Iscritte	Cessate	Variazioni
2017	Totale Sezione	61,808	60,977	2,786	2,927	338
	A 01 Coltivazioni agricole e produzione di prodotti animali,...	60,688	59,933	2,755	2,866	324
Sezioni e divisioni attività		Registrate	Attive	Iscritte	Cessate	Variazioni
2016	Totale Sezione	61,611	60,735	2,175	2,888	187
	A 01 Coltivazioni agricole e produzione di prodotti animali, c...	60,475	59,683	2,152	2,829	169
Sezioni e divisioni attività		Registrate	Attive	Iscritte	Cessate	Variazioni
2015	Totale Sezione	62,137	61,270	1,966	3,087	246
	A 01 Coltivazioni agricole e produzione	60,983	60,202	1,918	3,039	228

Tabella 2.1 (segue)

Sezioni e divisioni attività		Registrate	Attive	Iscritte	Cessate	Variazioni
2014	Totale Sezione	63,012	62,136	1,767	3,967	137
	A 01 Coltivazioni agricole e produzione	61,876	61,088	1,727	3,906	137
Sezioni e divisioni attività		Registrate	Attive	Iscritte	Cessate	Variazioni
2013	Totale Sezione	65,080	64,209	2,122	5,033	187
	A 01 Coltivazioni agricole e	63,923	63,143	2,073	4,959	173
Sezioni e divisioni attività		Registrate	Attive	Iscritte	Cessate	Variazioni
2012	Totale Sezione	67,804	66,906	2,367	5,352	200
	A 01 Coltivazioni agricole e	66,636	65,825	2,311	5,284	181

Nella Tabella 2.2 sono riportati invece i dati dell'Inps circa il numero di aziende che occupano operai dipendenti nelle varie regioni italiane. È opportuno considerare i dati di tale Ente in quanto consente di fare una panoramica più esaustiva sulla situazione. Infatti, oggi la gestione del rapporto assicurativo è di pertinenza dell'Inps che nel settore agricolo riceve i contributi da parte dei lavoratori autonomi e dipendenti, riversando all'Inail la parte di quota contributiva che concerne l'assicurazione contro le malattie professionali e gli infortuni. I datori di lavoro agricoli, di conseguenza, sono tenuti a denunciare una malattia di tipo occupazionale o un incidente sul lavoro ma non sono obbligati ad assicurare i lavoratori presso l'Inail. Sostanzialmente, pur considerando valori numerici molto diversi, la tabella mostra un trend simile di riduzione negli anni del numero delle aziende del settore.

Tabella 2.2 - Numero di aziende che occupano operai agricoli dipendenti per regione e anno (2011-16) (Fonte dati Inps)

Regione	Anno					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Piemonte	7.044	7.217	7.246	7.258	7.394	7.557
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	386	424	437	428	424	424
Liguria	1.531	1.588	1.562	1.542	1.572	1.584
Lombardia	9.801	10.054	10.022	9.851	9.796	9.900
Trentino-Alto-Adige	7.392	7.488	7.728	7.897	7.962	7.978
Veneto	7.779	8.221	8.246	8.206	8.269	8.460
Friuli-Venezia Giulia	1.748	1.849	1.862	1.882	1.884	1.929
Emilia-Romagna	13.179	13.178	13.058	13.015	12.917	12.930
Toscana	8.388	8.517	8.430	8.087	8.380	8.444
Umbria	2.393	2.378	2.438	2.400	2.422	2.435
Marche	2.446	2.516	2.516	2.516	2.530	2.596
Lazio	7.678	7.968	7.834	7.747	7.833	8.054
Abruzzo	2.322	2.448	2.508	2.446	2.573	2.642
Molise	880	923	939	946	1.003	975
Campania	17.395	15.932	14.813	13.723	13.091	12.731
Puglia	35.712	35.682	34.856	34.429	35.078	34.700
Basilicata	3.891	3.865	3.749	3.622	3.577	3.561
Calabria	31.512	30.302	28.968	28.163	27.585	27.098
Sicilia	28.998	28.612	28.066	27.804	27.909	27.486
Sardegna	5.193	5.018	4.773	4.724	4.882	4.940
Totale	195.668	194.180	190.051	186.686	187.081	186.424
Nord Ovest	18.762	19.283	19.267	19.079	19.186	19.465
Nord Est	30.098	30.736	30.894	31.000	31.032	31.297
Centro	20.905	21.379	21.218	20.750	21.165	21.529
Sud	91.712	89.152	85.833	83.329	82.907	81.707
Isole	34.191	33.630	32.839	32.528	32.791	32.426

La Tabella 2.3 riporta invece il numero di operai agricoli dipendenti totali in Italia e ripartiti per le diverse regioni. Il sud nel suo complesso risulta l'area con il maggior numero di lavoratori (il 40.5% sul totale registrato in Italia) mentre l'area del Nord-ovest quella con la minore percentuale (9.5%). In Campania risulta essere presente il 6.6% degli operai agricoli.

Tabella 2.3 - Numero di operai agricoli dipendenti per regione (anni 2015-16) (Fonte dati INPS)

Regione	Anno		Variazione % 2016/2015
	2015	2016	
Piemonte	36.884	38.317	3,9%
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	1.851	1.921	3,8%
Liguria	5.873	6.022	2,5%
Lombardia	51.250	51.750	1,0%
Trentino-Alto-Adige	52.798	52.469	-0,6%
Veneto	57.647	59.787	3,7%
Friuli-Venezia Giulia	13.114	13.468	2,7%
Emilia-Romagna	91.285	92.043	0,8%
Toscana	55.432	54.845	-1,1%
Umbria	13.218	13.228	0,1%
Marche	15.133	14.905	-1,5%
Lazio	41.303	42.124	2,0%
Abruzzo	17.638	17.163	-2,7%
Molise	5.093	5.231	2,7%
Campania	69.267	68.849	-0,6%
Puglia	185.820	185.481	-0,2%
Basilicata	27.436	26.948	-1,8%
Calabria	117.736	115.516	-1,9%
Sicilia	150.995	151.066	0,0%
Sardegna	24.752	24.521	-0,9%
Italia	1.034.525	1.035.654	0,1%
Nord Ovest	95.858	98.010	2,2%
Nord Est	214.844	217.767	1,4%
Centro	125.086	125.102	0,0%
Sud	422.990	419.188	-0,9%
Isole	175.747	175.587	-0,1%

Gli ultimi dati disponibili della Banca Dati Statistici dell'Inail riportanti le informazioni relative al numero dei lavoratori suddivisi per settore di attività economica, indicano che, in Campania, il settore dell'Agricoltura, Silvicoltura e Pesca è al quart'ultimo posto per consistenza numerica (seguono i settori dell'estrazione di minerali da cave e miniere, quello delle organizzazioni ed organismi extraterritoriali e quello delle attività di famiglie e convivenze come datori di lavoro per personale domestico: produzione di beni e servizi indifferenziati per uso proprio da parte di famiglie e convivenze) mentre al primo posto è il commercio all'ingrosso e al dettaglio e al secondo il settore delle attività manifatturiere (Tabella 2.4).

Tabella 2.4 - Numero di lavoratori in Campania per i diversi settori di attività economica (2012-2016)

Settore di attività economica (Sezione Ateco)	Anno				
	2012	2013	2014	2015	2016
A Agricoltura, silvicoltura e pesca	3.522	3.435	3.369	3.479	3.317
B Estrazione di minerali da cave e miniere	462	411	488	514	451
C Attività manifatturiere	122.252	117.816	118.075	124.325	129.826
D Fornitura di energia elettrica, gas, vapore e aria condizionata	2.927	2.960	2.778	2.929	3.097
E Fornitura di acqua; reti fognarie, attività di gestione dei rifiuti e risanamento	16.004	15.424	15.483	16.203	16.490
F Costruzioni	86.516	79.296	76.055	84.265	89.489
G Commercio all'ingrosso e al dettaglio; riparazione di autoveicoli e motocicli	126.984	123.941	123.982	138.089	149.938
H Trasporto e magazzinaggio	47.925	47.735	45.642	49.996	53.212
I Attività dei servizi di alloggio e di ristorazione	40.915	40.101	40.038	45.406	48.835
J Servizi di informazione e comunicazione	12.903	13.170	13.136	15.145	16.103
K Attività finanziarie e assicurative	18.563	18.056	17.786	17.817	17.884
L Attività immobiliari	5.287	5.184	5.022	5.592	5.998
M Attività professionali, scientifiche e tecniche	23.636	24.488	24.844	27.458	27.853
N Noleggio, agenzie di viaggio, servizi di supporto alle imprese	32.966	31.344	30.885	33.132	35.220
O Amministrazione pubblica e difesa; assicurazione sociale obbligatoria	66.461	56.635	54.633	55.773	53.643
P Istruzione	11.043	11.232	10.582	10.847	11.051
Q Sanità e assistenza sociale	83.483	70.029	69.887	73.455	72.982
R Attività artistiche, sportive, di intrattenimento e divertimento	9.639	9.241	9.086	9.694	10.074
S Altre attività di servizi	26.267	26.113	25.735	26.974	27.216
T Attività di famiglie e convivenze come datori di lavoro per personale domestico; produzione di beni e servizi indifferenziati per uso proprio da parte di famiglie e convivenze	205	198	194	220	219
U Organizzazioni ed organismi extraterritoriali	373	458	435	456	372
X Non determinato	16.347	33.070	28.640	30.574	41.954
Totale	754.688	738.338	716.755	772.384	815.865

La tabella indica, inoltre, che nel 2016 i lavoratori (regolarmente registrati e assicurati) del settore agricoltura, silvicoltura e pesca ammontavano in regione Campania a 3.317 e tale valore confermerebbe la tendenza generale alla riduzione che il comparto ha subito negli ultimi anni considerando che nel 2012 i lavoratori erano 3.522. I dati Inps evidenziano inoltre che nel 2016 la classe di età prevalente degli operai agricoli è quella dai 45 ai 49 anni mentre le due classi meno rappresentate sono quella fino ai 19 anni e quella oltre i 65 anni (Figura 2.1). Inoltre, continua a essere quasi dimezzata la presenza delle donne rispetto a quella degli uomini (il 34% circa sul totale degli agricoltori) con un ulteriore trend di riduzione negli anni dal 2011 al 2016 (Figura 2.2)

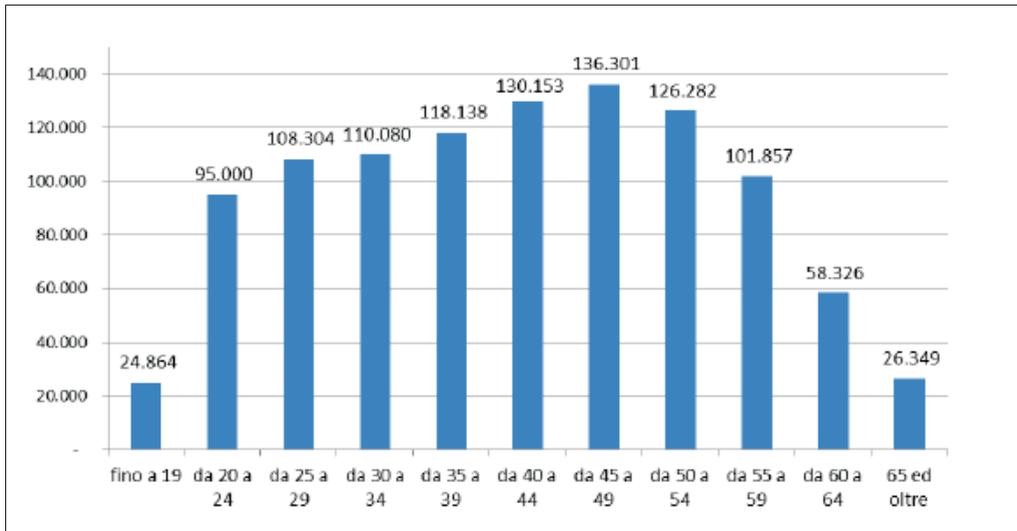


Figura 2.1 - Distribuzione degli operai agricoli dipendenti per classi di età (anno 2016).
(Fonte dati INPS 2017a)

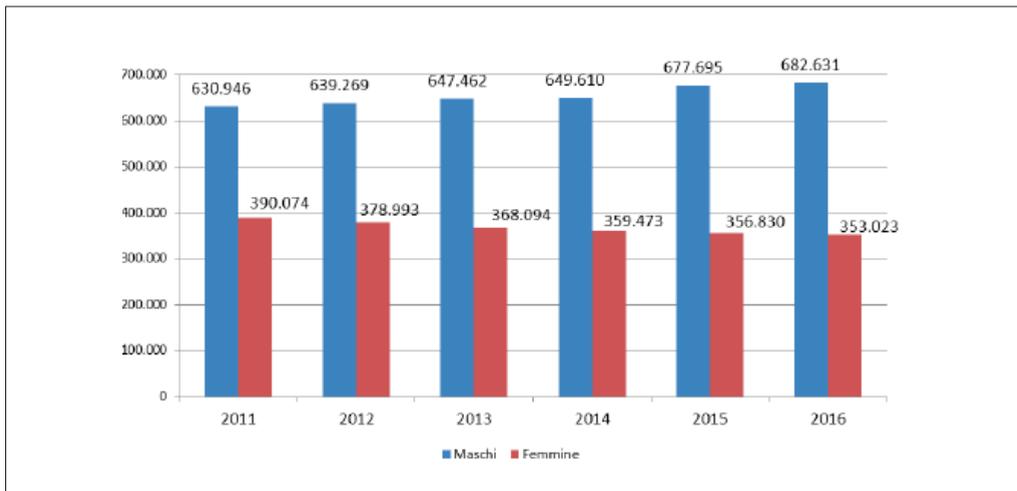


Figura 2.2 - Distribuzione degli operai agricoli dipendenti per sesso (anni 2011-2016).
(Fonte dati INPS 2017a)

Per quanto riguarda i lavoratori agricoli autonomi delle tre categorie annoverate (coltivatori diretti, coloni e mezzadri, imprenditori agricoli professionali), la distribuzione nel 2016 registrata dall'Inps evidenzia la preponderante presenza dei coltivatori diretti (92.1%), seguita da quella degli imprenditori agricoli professionali (7.8%) e solo dallo 0.1% di coloni e mezzadri. È interessante riportare come ci sia

stato un decremento rilevante dal 2011 al 2016 dei coltivatori diretti (-6%) pur continuando a prevalere sulle altre 2 categorie. I coloni e mezzadri hanno subito una riduzione ancora più consistente nello stesso lasso temporale (-49.1%) mentre, ovviamente, la categoria degli imprenditori agricoli professionali ha fatto registrare un incremento importante (32.3%).

Il numero di aziende agricole autonome ha subito nel periodo 2011-2016 un decremento per le regioni del Nord Ovest, Nord Est e Centro Italia mentre, nel complesso, si registra un incremento per il Sud e le Isole. La Campania fa eccezione a questo trend in quanto si osserva un lieve decremento che si attesta sul 2.6% (Tabella 2.5).

Tabella 2.5 - Numero di aziende agricole autonome per regione e anno (anni 2011-2016) (Fonte dati INPS 2017a)

Regione	Anno					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Piemonte	37.538	36.848	36.117	35.460	34.929	35.150
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	1.335	1.309	1.286	1.268	1.253	1.243
Liguria	8.352	8.199	7.946	7.724	7.542	7.444
Lombardia	29.280	29.195	28.958	28.749	28.601	28.559
Trentino-Alto-Adige	16.970	16.869	16.754	16.616	16.528	16.507
Veneto	32.338	32.047	33.408	33.059	32.808	32.697
Friuli-Venezia Giulia	6.410	6.327	6.368	6.345	6.340	6.360
Emilia-Romagna	34.099	33.436	32.829	32.245	31.978	31.613
Toscana	23.337	23.440	23.218	22.860	22.912	23.303
Umbria	6.727	6.628	6.550	6.440	6.383	6.509
Marche	13.719	13.468	13.236	12.982	12.804	12.842
Lazio	21.284	21.171	20.760	20.551	20.457	20.912
Abruzzo	13.207	12.854	12.537	12.251	11.926	11.642
Molise	6.342	6.137	5.955	5.752	5.617	5.624
Campania	27.677	27.614	27.652	27.393	26.950	26.956
Puglia	22.216	22.916	23.397	23.999	24.561	25.127
Basilicata	7.729	8.066	8.041	7.905	7.779	7.802
Calabria	7.592	7.966	8.414	8.397	8.456	8.553
Sicilia	22.839	23.360	23.737	23.966	24.017	24.023
Sardegna	20.842	20.689	20.637	20.638	20.687	20.908
Totale	359.833	358.539	357.800	354.600	352.528	353.774
Nord Ovest	76.505	75.551	74.307	73.201	72.325	72.396
Nord Est	89.817	88.679	89.359	88.265	87.654	87.177
Centro	65.067	64.707	63.764	62.833	62.556	63.566
Sud	84.763	85.553	85.996	85.697	85.289	85.704
Isole	43.681	44.049	44.374	44.604	44.704	44.931

Più della metà dei lavoratori agricoli autonomi nel 2016 sono delle regioni del Nord (51.8%), seguono quelli del Sud (20.5%), Centro (17.1%) e Isole (10.6%).

Riguardo alla distribuzione regionale dei lavoratori agricoli autonomi la Campania è la decima delle 20 regioni considerate per numero di lavoratori agricoli autonomi con un valore percentuale sul totale di 6.3. Sempre in Campania, per i lavoratori autonomi del settore, risulta meno marcato il divario nella distribuzione tra i sessi con una percentuale del 42% circa di donne (Tabella 2.6).

Tabella 2.6 - Numero di lavoratori agricoli autonomi di sesso maschile e femminile nelle varie regioni italiane (anno 2016) (Fonte Dati INPS 2017a)

Regione	Sesso		Totale
	Maschi	Femmine	
Piemonte	33.132	17.079	50.211
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	954	671	1.625
Liguria	5.090	3.686	8.776
Lombardia	32.331	12.089	44.420
Trentino-Alto-Adige	17.638	10.217	27.855
Veneto	32.901	15.490	48.391
Friuli-Venezia Giulia	5.710	3.046	8.756
Emilia-Romagna	32.247	13.044	45.291
Toscana	17.385	11.545	28.930
Umbria	4.599	3.325	7.924
Marche	9.984	6.123	16.107
Lazio	14.208	10.278	24.486
Abruzzo	6.877	6.390	13.267
Molise	3.304	3.010	6.314
Campania	16.688	12.177	28.865
Puglia	18.757	8.878	27.635
Basilicata	5.071	3.239	8.310
Calabria	5.838	2.919	8.757
Sicilia	17.704	7.856	25.560
Sardegna	17.355	5.114	22.469
Italia	297.773	156.176	453.949
Nord Ovest	71.507	33.525	105.032
Nord Est	88.496	41.797	130.293
Centro	46.176	31.271	77.447
Sud	56.535	36.613	93.148
Isole	35.059	12.970	48.029

La distribuzione per classi d'età dei lavoratori autonomi mostra per lo stesso anno di riferimento (2016) alcune differenze rispetto a quella dei lavoratori dipendenti. Innanzitutto, la classe con maggiore frequenza risulta essere quella dai 50 ai 54 anni, non si osserva poi che un lieve decremento nelle classi successive cui segue un evidente rialzo importante per la classe dai 70 anni ed oltre; infine dalla classe fino ai 19 anni e le classi successive si osserva un incremento progressivo ma molto più lento (Figura 2.3).

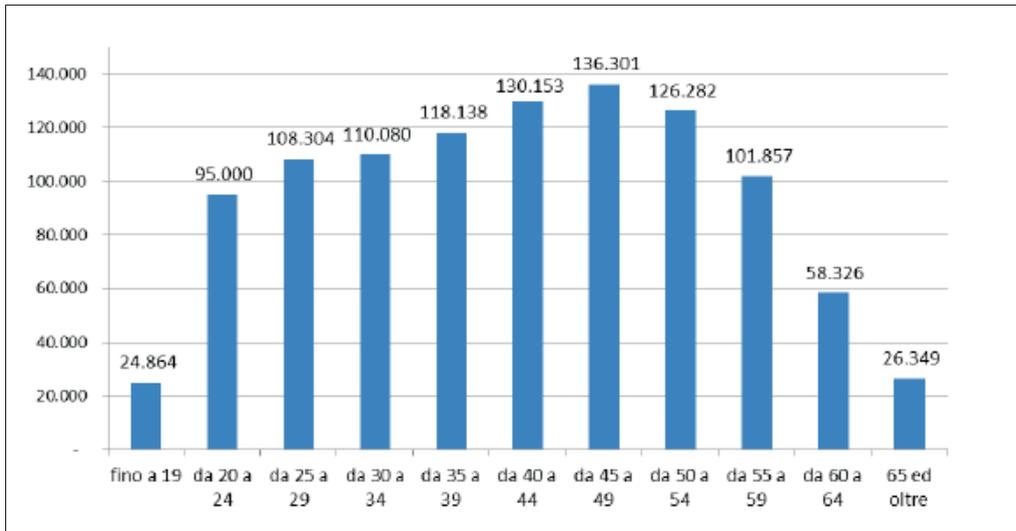


Figura 2.3 - Distribuzione degli operai agricoli autonomi per classi di età (anno 2016).
(Fonte dati INPS 2017a)

Per quanto concerne la provenienza dei lavoratori agricoli, nel 2017 sono risultati iscritti all'Inps 139.078 lavoratori agricoli non comunitari rispetto ai 1.185.585 lavoratori nel privato e 375.901 lavoratori domestici fra colf e badanti con un reddito medio annuo di un lavoratore agricolo extracomunitario di 8.583 euro, di 14.857 euro per il lavoratore nel settore privato non agricolo e 8.246 euro per chi lavora nelle famiglie (Inps 2017b). Secondo Coldiretti Campania, più di un lavoratore su sei che lavora nelle imprese agricole ed agroalimentari campane è straniero. Il dato si basa sull'analisi del Dossier statistico immigrazione Caritas-Migrantes e su dati Inps, in relazione al numero degli occupati immigrati in agricoltura che in Campania è di 17.100 unità. Ovviamente queste stime, come già precisato, si basano sui dati degli iscritti ufficiali (lavoratori registrati) e non considerano il vasto contributo al settore che, in alcune regioni italiane e soprattutto nel sud Italia e quindi anche in Campania, è dato dalla manovalanza che lavora in nero e, ancor peggio, da quanti sono soggetti al fenomeno criminale del caporalato che costringe a lavorare, per pochi euro al giorno e in condizioni di quasi schiavitù, tanti lavoratori, soprattutto immigrati.

2.2. Analisi del riscontro di infortuni nei lavoratori del comparto agro-zootecnico con particolare riferimento all'incidenza di patologie respiratorie

Per quanto concerne in generale la stima in Campania degli infortuni nel settore

Agricoltura, Silvicoltura e Pesca, questi hanno subito una riduzione dal 2012 fino al 2015 (da 1578 a 1286) per poi mostrare una inversione di tendenza nel 2016 (1343 casi) (banca dati Inail 2017). Solo una minima percentuale di questi casi è stata di mortalità (circa lo 0.7% nel 2016). Per quanto riguarda le modalità di insorgenza degli infortuni, la maggior parte sono occorsi durante l'attività e solo il 5% circa dei casi si sono verificati in itinere; l'86% circa degli episodi sono occorsi ai danni di lavoratori italiani e il restante 14% ai danni di cittadini extraeuropei e dell'Unione Europea (Tabella 2.7).

Tabella 2.7 - Tipologia di infortuni (denunciati) occorsi in regione Campania (2012-2016) (banca dati Inail)

Infortuni nel complesso-Gestione Agricoltura					
	2012	2013	2014	2015	2016
Campania	1,578	1,488	1,419	1,286	1,343
di cui mortali					
Campania	10	17	15	9	10
Infortuni accaduti in occasione di lavoro (esclusi in itinere)					
Campania	1560	1478	1393	1262	1318
-					
Infortuni nel complesso avvenuti in Campania per provenienza lavoratori					
Italia	1,451	1,346	1,281	1,129	1,179
Unione Europea (esclusa Italia)	62	65	57	65	66
Extra Unione Europea	65	77	81	92	98

Per quanto concerne la tipologia di malattie denunciate in Campania all'Inail, secondo la classificazione statistica internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità concernente le malattie e i problemi sanitari correlati (ICD-10) pubblicata dal Ministero della Sanità, il settore che contempla le patologie dell'apparato respiratorio (J00-J99) risulta al terzo posto (con 11 casi di denuncia nel 2016) dopo

il preponderante riscontro delle malattie dell'apparato osteo-muscolare e del tessuto connettivo (M00-M99) (698 casi nel 2016) e quelle del sistema nervoso (G00-G99) (70 casi nel 2016) (Tabella 2.8).

Tabella 2.8 - Tabella riepilogativa delle malattie professionali denunciate per il settore agricoltura (Fonte - banca dati statistici Inail 2017)

Settore ICD-10	Anno di protocollazione				
	2012	2013	2014	2015	2016
Alcune malattie infettive e parassitarie (A00-B99)	0	0	0	0	0
Tumori (C00-C48)	1	3	1	1	0
Malattie del sangue e degli organi ematopoietici ed alcuni disturbi del sistema immunitario (D50-D89)	0	0	0	1	0
Malattie endocrine, nutrizionali e metaboliche (E00-E90)	0	0	0	1	0
Malattie del sistema nervoso (G00-G99)	32	66	72	85	70
Malattie dell'occhio e degli annessi oculari (H00-H59)	0	0	1	1	0
Malattie dell'orecchio e dell'apofisi mastoide (H60-H95)	10	12	17	16	12
Malattie del sistema circolatorio (I00-I99)	0	1	1	1	0
Malattie del sistema respiratorio (J00-J99)	11	16	19	14	11
Malattie dell'apparato digerente (K00-K93)	1	0	0	0	0
Malattie della cute e del tessuto sottocutaneo (L00-L99)	1	3	2	1	0
Malattie del sistema osteomuscolare e del tessuto connettivo (M00-M99)	290	550	653	761	698
Malattie dell'apparato genitourinario (N00-N99)	0	0	0	1	0
Non Determinato	7	7	12	14	28
Totale	353	658	778	897	819

Più in particolare, nell'ambito della categoria delle malattie croniche delle basse vie respiratorie (J40-J47), ci sono state 3 denunce di asma (J45.0) per il 2012, 6 per il 2013, 9 per il 2014, 5 per il 2015, 2 per il 2016. Per quanto concerne le malattie polmonari da agenti esterni (J60-J70) le alveoliti allergiche estrinseche con o senza evoluzione fibrotica (J67) c'è stato in Campania un solo caso sia nel 2012 che nel 2015 e 2 casi sono stati denunciati nel 2014 (come rilevato dalla banca dati statistica Inail delle malattie professionali in agricoltura denunciate).

Riguardo le alveoliti allergiche estrinseche con o senza evoluzione fibrotica, 1 caso denunciato nel 2015 è stato correlato all'esposizione a spore di actinomiceti, 1 caso nel 2012 è stato correlato specificamente ad una esposizione a miceti (aspergilli, penicilli e altri) 2 casi nel 2014 sono stati imputati a derivati animali proteici (di origine aviaria, suina, bovina). I casi di asma bronchiale (J45.0) sono stati invece correlati, negli infortuni denunciati, all'esposizione a polveri di granaglie, frequentemente contaminate da micotossine (7 casi denunciati dal 2012 al 2016), a pollini da coltivazioni di graminacee e oleacee composite (girasole) (17 casi nello stesso range temporale) e a derivati dermici (forfora, peli, piume) o deiezioni animali (1 caso nel 2014) (Tabella 2.9).

NB: Le malattie sono indicate con la specifica dicitura e secondo la classificazione statistica internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità delle malattie e dei problemi sanitari correlati pubblicata dal Ministero della Sanità (ICD-10).

Tabella 2.9 - Dettaglio delle possibili cause di malattie professionali che interessano l'apparato respiratorio o cutaneo, denunciate all'Inail

Malattia professionale o sostanza che la causa: 18) Alveoliti allergiche estrinseche con o senza evoluzione fibrotica (j 67) causate da					
Malattia o sostanza che la determina	Anno di protocollazione				
	2012	2014	2015		
a) Spore di actinomiceti termofili	0	0	1		
b) Miceti (aspergilli, penicilli, altri)	1	0	0		
c) Derivati proteici (aviani, suini, bovini)	0	2	0		
Totale	1	2	1		

Malattia professionale o sostanza che la causa: 17) Asma bronchiale (J45.0) causata da					
Malattia o sostanza che la determina	Anno di protocollazione				
	2012	2013	2014	2015	2016
a) Polveri di granaglie	1	1	2	3	0
c) Pollini da coltivazioni di graminacee, oleacee composite (girasole)	2	5	6	2	2
f) Derivati dermatici (forfore, pelli, piume), deiezioni animali	0	0	1	0	0
Totale	3	6	9	5	2

Malattia professionale o sostanza che la causa: 14) Dermatite allergica da contatto (L23) causata da		
Malattia o sostanza che la determina	Anno di protocollazione	
	2013	2015
i) Derivati di piante e fiori (primula, crisantemi, gerani, tulipani)	2	1
Totale	2	1

Esaminando i dati relativi agli infortuni indennizzati, quindi correlati agli episodi denunciati, esaminati e riconosciuti dall'Inail, verificatisi in un arco temporale che va dal 2012 al 2016, non risultano presenti casi attribuibili specificamente a problemi a carico dell'apparato respiratorio mentre sono predominanti le lesioni di natura osteo-articolare e muscolare correlabili all'espletamento delle attività lavorative. Tuttavia, sono indicati 2 casi (occorsi nel 2012) di lesioni di organi interni indotte da agenti non identificati e diversi infortuni sono ancora da esaminare (indicati come ancora da determinare) per quanto concerne sia la sede della lesione che la natura della stessa.

I dati presentati indicano che le patologie respiratorie in genere sono presenti tra le malattie oggetto di denuncia ma sono secondarie a quelle che originano da traumi diretti che insorgono durante il lavoro e che sono maggiormente a carico degli arti, del rachide o dell'occhio. Al termine dell'iter procedurale di analisi del singolo caso clinico e di verifica delle condizioni lavorative predisponenti, tuttavia, nessun caso per il quale l'Inail ha riconosciuto una responsabilità lavorativa interessa l'apparato respiratorio.

Le motivazioni possono essere legate alla obiettiva difficoltà di correlare inequivocabilmente una patologia respiratoria in atto con l'ambiente di lavoro considerando la possibile presenza di una predisposizione soggettiva e di diversi cofattori scatenanti la patologia mentre non ci sono grandi difficoltà a riconoscere una

lesione ad una mano che può essersi verificata inequivocabilmente durante le operazioni routinarie lavorative. Deve essere anche sottolineato che i medici di base difficilmente ipotizzano cause di malattie non convenzionali ma piuttosto tendono a considerare quali potenziali fattori causali quelli di natura infettiva o infestiva oltre a quelli di natura meccanica. Le micotossine e le micotossicosi sono tra i fattori poco noti, xenobiotici che non si conoscono approfonditamente come responsabili di patologie respiratorie e ancor meno frequentemente si identificano come possibili agenti causali di altre patologie come quelle che inducono ad es. problemi della riproduzione, della risposta immunitaria dell'apparato gastro-enterico. Tali xenobiotici inoltre, possono sinergizzare con altri contaminanti sia di natura biologica (endotossine batteriche, acari ecc.) che di natura chimica di frequente riscontro nell'ambiente agro-zootecnico come quelli organici persistenti (bifenilipoliclorurati e diossine) o diversi pesticidi impiegati abitualmente nelle attività agricole.

Tra le cause di un ridotto riscontro in banca dati Inail di infortuni indennizzati con lesioni dell'apparato respiratorio, deve anche essere preso in considerazione il problema, come precedentemente accennato, dell'impiego nel settore agro-zootecnico di manodopera non registrata, che annovera più spesso immigrati di origine europea ed extraeuropea. Per questi soggetti che lavorano in nero e in condizioni disumane sia per quanto concerne il numero di ore garantite che per quanto concerne il guadagno è anche accertato che non sono rispettate le condizioni standardizzate cautelative con l'impiego dei basilari dispositivi di protezione. Lesioni a carico di questi soggetti sono raramente denunciate a meno che non siano infortuni gravi. Per tale motivo la casistica disponibile non è realistica perché sicuramente in Campania sottostima il fenomeno.

Far coincidere la classe a) con la classe 1) "moderati" e la classe b) con la classe 2) "severi" definite in precedenza dalla normativa tecnica, è un errore. Si può giungere infatti, nel migliore dei casi ad un'interpretazione troppo ampia da parte del valutatore del concetto di "adeguatezza" con conseguente realizzazione di condizioni poco vicine a quelle del benessere anche nei casi più semplici e, nel peggiore dei casi, ad una grave sottovalutazione del rischio per la salute.

3. Micotossine e micotossicosi

3.1. Fattori di crescita dei micromiceti e di sintesi delle micotossine, fonti

Le muffe sono funghi microscopici (micromiceti) eterotrofici (organismi viventi incapaci di sintetizzare tutti i propri costituenti organici), dipendenti dal substrato organico su cui si sviluppano per la loro nutrizione a base di carbonio. Le specie fungine possono essere saprofiti (attributo proprio di molteplici microrganismi che vivono a spese di organismi morti o di sostanze organiche in decomposizione) o fitotossiche ed isolate su vegetali o su derrate alimentari che risultano visibilmente danneggiati (Figura 3.1).



Figura 3.1 - Marciume rosato della spiga di mais da *Fusarium* - "Fusarium ear rot";
fonte: <https://cropprotectionnetwork.org/resources/articles/diseases/fusarium-ear-rot-of-corn>

Esistono alcune teorie sull'origine delle micotossine: secondo alcuni sarebbero i prodotti del metabolismo vegetale bioattivato da specifici enzimi fungini; altri le considerano come fitotossine sintetizzate dalla pianta in risposta all'aggressione fungina (fitopatogena); altri (la maggior parte degli studiosi) come prodotti del metabolismo fungino secondario. Il metabolismo primario è comune a tutte le specie fungine e nel complesso è molto simile all'insieme delle vie metaboliche presenti nei vertebrati (consentendo la sintesi glucidica, lipidica e proteica); il

metabolismo secondario, caratteristico di una determinata specie o ceppo fungino, è implicato nella sintesi di composti specifici per ciascuna muffa. Allo stesso tempo può essere prodotto un rilevante numero di metaboliti secondari simili, che vanno a costituire una famiglia di micotossine con differenze di tossicità talvolta molto marcate (ad es. le aflatossine B2 e G2 non sono mutagene; le B1 e G1 sono mutagene). All'interno di una stessa specie non tutti i funghi sono tossinogeni.

Le micotossine sono prodotte raramente nella fase di crescita dal tallo ma, lo sono nella fase di biosintesi, quando l'ambiente tende ad essere sprovvisto in nutrienti che forniscono azoto e fosforo (probabile reazione di difesa o di malessere).

Le micotossine compaiono nell'ambiente attraverso due passaggi:

- crescita della specie fungina tossinogena
- sintesi di micotossine.

A volte queste due fasi coincidono ma più spesso si susseguono. L'ambiente dove cresce il fungo e le sue capacità di adattamento sono fattori essenziali per la tossinogenesi.

Numerosi sono i fattori che favoriscono la crescita delle muffe: il tenore in acqua, l'umidità relativa dell'ambiente, la temperatura ambiente, la specificità di alcuni substrati, gli elementi che compongono il substrato (spesso matrici di origine vegetale) come la loro ricchezza in grassi o in azoto, la competizione tra i diversi organismi sono tutti parametri da considerare.

• **Temperatura:** la temperatura ottimale per lo sviluppo della maggior parte delle specie fungine tossinogene di interesse medico e medico-veterinario è compresa tra 20-32°C (anche 38°C per *Aspergillus flavus*), l'umidità del substrato intorno al 30% e quella relativa prossima al 100%. Le tossine vengono sintetizzate a temperature in genere lievemente più basse (come per le aflatossine e le ocratossine); il divario è maggiore ad esempio per lo zearalenone per la cui sintesi sono necessarie temperature anche di 12-14°C, che si registrano per la forte escursione termica tipica delle zone temperate, nel periodo autunnale. La temperatura di crescita varia in rapporto anche al verificarsi delle altre condizioni idonee di crescita come la disponibilità in acqua del substrato. Se una temperatura di 20-30°C sembra ottimale per la maggior parte delle muffe alcune crescono intorno a 60°C o producono tossine intorno a 10°C. Le specie fungine si riscontrano soprattutto negli ambienti dove c'è fermentazione con produzione di calore (fieni, cereali immagazzinati, alimenti conservati in ambienti dove la temperatura è abbastanza alta).

La temperatura è inoltre un fattore discriminante da tenere in considerazione nell'analisi del processo di sintesi; infatti, uno stesso fungo può elaborare tossine diverse a temperature diverse (*Aspergillus ochraceus* a 25°C sintetizza ocratossina A, a 20°C acido penicillico). È opportuno specificare anche che i trattamenti termici classici, cui sono sottoposti in genere gli alimenti, permettono di distruggere le muffe mentre sono per lo più poco efficaci contro le micotossine che si definiscono termostabili.

Nel 2017 l'EFSA (Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare) ha presentato l'anteprima di un nuovo video su "Micotossine e cambiamenti climatici" in cui si mette in luce come i cambiamenti di temperatura, umidità, precipitazioni e produzione di anidride carbonica influiscono sul comportamento dei funghi e, di conseguenza, sulla produzione di micotossine (EFSA, 2017). Tali cambiamenti, e soprattutto l'innalzamento delle temperature che si stanno registrando ovunque nel mondo hanno indotto a ipotizzare che nel prossimo futuro, con un aumento di soli due gradi della temperatura ambiente, nell'Europa del sud ci saranno livelli di micotossine nelle derrate vegetali (principalmente aflatossine) che supereranno i limiti di tolleranza fissati dalla normativa.

• **Tenore in acqua:** l'umidità ambiente, soprattutto, ed il tenore in acqua degli alimenti sono due fattori importanti che condizionano la contaminazione; la crescita delle muffe dipende strettamente dall'umidità relativa all'equilibrio (pressione di vapore parziale rapportata alla pressione di vapore a saturazione) che traduce l'attività dell'acqua e dipende dalla natura dei substrati dell'alimento, dalla sua ricchezza in grassi, in gomme, ecc. Sembra anche che il grado di umidità degli alimenti svolga un ruolo selettivo nei confronti dei microrganismi. Le muffe, infatti, crescono sulle derrate con elevato tenore di umidità in parte disponibile e in parte legata e quindi non utilizzabile per la crescita dei microrganismi che utilizzano solo l'acqua libera. La tossinogenesi aumenta, infatti, proporzionalmente all'aumento dell'*aw* fino a livelli di quest'ultima inibenti la crescita degli stessi miceti. La maggior parte delle muffe tossinogene si sviluppano a valori di *aw* superiori a quelli necessari allo sviluppo di ceppi non tossinogeni. Per crescere i micromiceti necessitano di acqua non legata con esigenze che variano tra i ceppi e in base alle temperature: ad es. l'*Aspergillus flavus* si sviluppa preferenzialmente a valori di *aw* di 0,82 e sintetizza i metaboliti fungini con *aw* di 0,87; l'*Aspergillus ochraceus* cresce e produce metaboliti secondari con livelli di *aw* rispettivamente in un range di 0,86-0,98 e 0,90-0,98.

Le condizioni ambientali e del substrato che consentono lo sviluppo delle muffe non sono quasi mai le stesse che consentono la produzione dei metaboliti tossici. Alcune volte micotossine come le aflatossine possono essere prodotte durante la conservazione o la commercializzazione di prodotti in precedenza ben essiccati quando per qualche causa i prodotti stessi ritornano ad inumidirsi. Questo accade nelle derrate conservate alla rinfusa in magazzino o in silos per condensazione di acqua sui pavimenti o su altre superfici fredde. Piuttosto frequente è anche l'eventualità di condensazione di acqua sui prodotti confezionati in buste di plastica quando il confezionamento avviene ad elevate temperature ed umidità.

In base alle esigenze d'acqua, le muffe sono classificate in:

- Xerofile (necessitano di bassi valori di *aw* - ad es. *Aspergillus ochraceus*);
- Mesofile (necessitano di medi valori *aw* - ad es. *Aspergillus flavus*);
- Idrofile (necessitano di alti tenori di acqua - ad es. *Fusarium proliferatum*).

Per limitare la contaminazione degli alimenti da micotossine il tenore in acqua deve essere, durante la conservazione, inferiore al 13% per il grano o al 7% per l'arachide.

• **Atmosfera gassosa:** le muffe sono aerobie ma possono adattarsi, quando sussistono le altre condizioni ottimali, all'ambiente in atmosfera modificata contenente più CO₂ della norma. La mancanza di ossigeno non uccide i funghi ma ne sospende le attività. La riduzione della proliferazione fungina diventa apprezzabile a concentrazioni di CO₂ del 20% e sia la sintesi delle aflatossine che la crescita delle relative specie produttrici sono completamente inibite a concentrazioni di CO₂ del 40-60%, anche quando non viene alterata la concentrazione di ossigeno dell'aria. Impianti di conservazione in atmosfera controllata di cereali, legumi e semi oleosi che prevedono l'impiego di aria variamente modificata ed arricchita di anidride carbonica e/o azoto sono impiegati con successo, congiuntamente ad una ridotta temperatura, anche su prodotti non completamente essiccati. I silos, gli insilati e le balle di fieno con una maggiore superficie di esposizione sono, al contrario, ambienti molto favorevoli allo sviluppo fungino soprattutto se c'è infiltrazione di umidità.

• **Influenza della natura del substrato:** se la crescita fungina avviene su una grande varietà di substrati, la produzione di tossine è molto più ristretta. Durante la conservazione poi, più che il substrato chimico è lo stato fisico dell'alimento che interviene nel favorire o meno la crescita di miceti. I semi se macinati anche grossolanamente, verranno più velocemente contaminati poiché il tegumento ha una funzione protettiva. Un prodotto poco comprimibile come granturco e arachidi lascerà uno spazio interstiziale importante, con maggiore interposizione di ossigeno per cui le muffe si svilupperanno facilmente più che nei silos dove i semi sono più piccoli (come nel caso del grano).

• **Composizione chimica** del substrato: ha maggiore importanza per quanto concerne la produzione delle micotossine; le aflatossine ad es. sono prodotte più agevolmente su un substrato ricco di amido, lo zearalenone su di un substrato cellulosico. Inoltre, la diversa predisposizione alla sintesi di micotossine potrebbe anche essere in relazione ad un diverso contenuto in microelementi del vegetale, tra cui zinco, boro, ferro, manganese e molibdeno.

• **Condizioni climatiche:** esiste una vera e propria "convenienza geografica" cioè condizioni climatiche ed ambientali consentono la moltiplicazione di una determinata specie fungina. Ad esempio, il *Fusarium tricinctum* si è reso responsabile in URSS della cosiddetta aleukia tossica alimentare (ATA) favorita dalle rigide temperature del Paese che hanno consentito sia la crescita del fungo che la produzione della tossina responsabile (T-2). Tra le aree geografiche più soggette al rischio da aflatossicosi vi sono alcune regioni tropicali e subtropicali dell'Africa (Ghana, Togo, Benin), dell'India, dell'Asia e dell'America, come risulta dalla frequenza dei campioni risultati positivi, dalle alte concentrazioni di aflatossine rinvenute nei prodotti alimentari e dalla ricorrenza di episodi di micotossicosi, anche umana, correlabile a queste tossine. Nelle suddette regioni, infatti, del resto, si verifica la concomitan-

za di diversi fattori favorevoli come ad es. condizioni termo-igrometriche e in generale climatiche perduranti a livelli ottimali per quasi tutto l'anno; coltivazione di prodotti agrari più idonei alla crescita dei funghi aflatossinogeni e alla sintesi di aflatossine; tecnologie della produzione, della trasformazione e della conservazione dei prodotti non adeguate.

• **Errori umani:** la meccanizzazione dei raccolti più che le improprie pratiche colturali si associa a indebolimento e distruzione degli involucri protettivi dei cereali favorendo la penetrazione e la germinazione delle spore fungine. La mietitura e i "raccolti a rasoterra" favoriscono la contaminazione fungina poiché le spore fungine sono presenti, in genere, nel terreno e la presenza di terra nel raccolto favorisce la germinazione e la crescita del fungo.

Una pratica errata ma comune nella manipolazione e commercializzazione delle granaglie è la miscelatura di partite di diversa provenienza. Tale pratica viene eseguita sia per migliorare la qualità di una partita aggiungendo un prodotto più pregiato, sia per raggiungere standard commerciali per il contenuto d'umidità mediante l'aggiunta di prodotto più secco. La miscelazione di partite diverse porta alla mescolanza di semi alcuni dei quali con umidità ancora sufficiente per lo sviluppo delle muffe. Nella migliore delle ipotesi occorrono 2-4 giorni per ottenere un'uniforme distribuzione dell'umidità in tutti i punti della massa.

• **Condizioni di stress della pianta:** possono aumentarne la suscettibilità all'infezione di funghi tossinogeni. In alcuni casi la contaminazione fungina (ad es. da *Aspergillus flavus*) può essere secondaria a condizioni di stress quali la mancanza d'acqua e il danno causato dagli insetti anche se l'ipotesi di uno sviluppo su vegetali in buone condizioni di crescita non può essere del tutto escluso. Tra le cause predisponenti vi sono: semine squilibrate, fitte o in periodi non adatti, assenza di rotazioni colturali, irrazionale impiego di dell'irrigazione (o condizioni di prolungata siccità), inadeguato utilizzo di fitofarmaci. Gli insetti come dicevamo, possono influire sulla crescita delle specie tossinogene e sulla sintesi delle micotossine sia come agenti vettori, favorendo il trasporto e la disseminazione delle spore fungine, sia come agenti di danneggiamento diretto dei prodotti, favorendo così una più massiccia colonizzazione fungina. A questo riguardo il ruolo degli insetti può assumere aspetti preoccupanti sia in campo, sia in magazzino.

• **Variabilità dell'ospite:** la presenza nella pianta di meccanismi di difesa e di resistenza ai funghi tossinogeni può limitare le infezioni e la successiva colonizzazione dell'ospite. Sono state individuate ad es. varietà di arachidi dotate di baccelli con tegumenti particolarmente ispessiti e resistenti all'*Aspergillus flavus*. Purtroppo, tali varietà si sono rivelate poco produttive e commercialmente non idonee per essere coltivate. L'*Aspergillus flavus* infetta le spighe di mais all'epoca della fioritura, germinando sugli stigmi floreali come fa il polline e portandosi nell'ovario dove resta confinato nell'embrione delle cariossidi. Ibridi di mais con strutture o con meccanismi

fisiologici florali particolari, o soltanto con epoca di fioritura sfasate rispetto alla presenza di inoculo fungino, potrebbero sfuggire alle infezioni da parte del patogeno.

Le condizioni ambientali meteorologiche nell'insieme costituiscono probabilmente il principale problema determinante la contaminazione fungina.

Infine, è opportuno dire che, sebbene la contaminazione fungina degli alimenti anticipi quella da micotossine, l'alimento contenente la specie fungina non sempre contiene anche il rispettivo metabolita secondario. Allo stesso tempo gli alimenti con basse aliquote di funghi micopatogeni non devono essere considerati esenti da micotossine poiché molte di queste sono altamente stabili nelle usuali condizioni di cottura o di lavorazione degli alimenti persistendo in un prodotto anche per molto tempo dopo la scomparsa del fungo produttore.

Fonti

Molteplici sono gli alimenti, principalmente di origine vegetale, che possono essere contaminati in primo luogo dalle diverse specie fungine e secondariamente dai loro metaboliti. Mais, grano, riso, segale, sorgo, i cereali in genere, mandorle, noci, pistacchi, arachidi e sottoprodotti delle loro rispettive lavorazioni (panelli e farine di estrazione) sono tra i principali substrati di crescita dei miceti (Rivka Barkai, 2008).

Le Aflatossine (AF) sono principalmente sintetizzate da ceppi fungini di *Aspergillus flavus* e *parasiticus* (Figura 3.2). Esse possono ritrovarsi in numerosi prodotti alimentari (soprattutto se provenienti da zone tropicali e subtropicali), prediligendo i cereali in genere e i semi oleosi anche se l'estrazione e idonei processi industriali ne comportano una consistente eliminazione. Le materie prime con il più alto rischio di contaminazione (che si riscontra sia in fase pre-raccolta che in fase di stoccaggio) includono il mais, le arachidi, le noci brasiliane, i pistacchi, i semi di cotone e di girasole e la polpa di noci di cocco essiccata, la qual cosa risulta di particolare interesse considerando che tali oleaginose costituiscono la più importante materia prima per la produzione degli oli edibili. Va sottolineato come risulti pericoloso il livello di esposizione umana alle aflatossine in quei Paesi come l'India dove gli oli vegetali non raffinati sono adoperati per un uso domestico. Le AF sono inoltre, rinvenibili nella frutta, soprattutto secca (fichi) e nel latte e prodotti lattiero-caseari. Questi ultimi alimenti possono contenere AFM1, cioè il 4-idrossi derivato dell'AFB1, che origina dalla conversione metabolica della AFB1 alla quale le vacche da latte sono esposte in conseguenza di una dieta a base di mangimi contaminati. È stato osservato un andamento stagionale nei livelli di contaminazione con più basse concentrazioni durante i mesi estivi quando gli animali consumano più erba che mangime concentrato. Sebbene la maggior parte dei riferimenti in letteratura riportano dati relativi al latte di vacca, è ben noto che l'AFM1 viene escreta anche nel latte di pecora, capra, bufala, cammella e come precedentemente detto nel latte di donna.

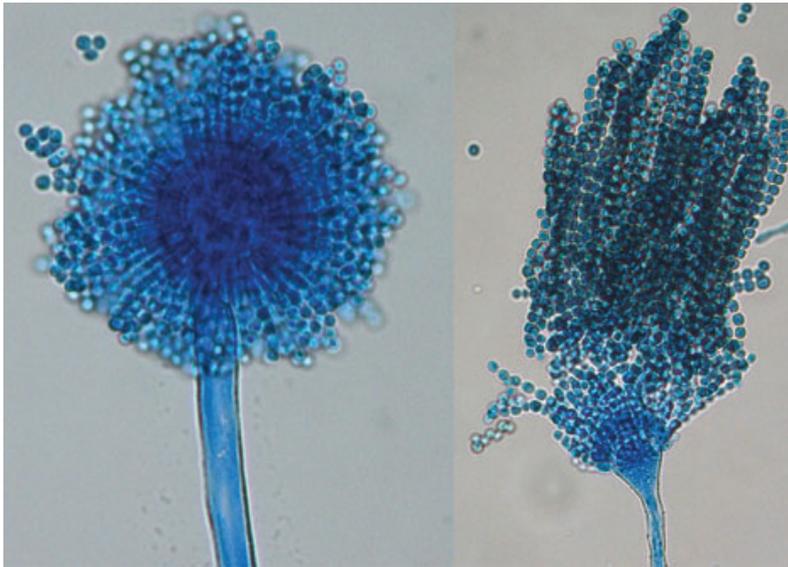


Figura 3.2 - *Aspergillus flavus*; fonte: <https://sites.google.com/site/sed695b4/projects/longitudinal-research/bread-mold-growth-dave-farina>

L'ocratossina A (OTA) è prodotta da *Aspergillus ochraceus* e da *Penicillium verrucosum*, muffe saprofiti, ubiquitarie, agenti di ammuffimento di granaglie, mangimi e prodotti finiti. La produzione di OTA risulta realizzarsi prevalentemente nella fase successiva al raccolto. I più alti livelli di contaminazione si osservano in cereali (orzo, frumento, mais e derivati) coltivati nelle zone della fascia temperata dell'emisfero Nord, oltre a caffè e legumi (soia, fagioli), semi di caffè verde, semi di cacao, vino, succo d'uva, birra, spezie ed erbe) e alimenti di origine animale, in particolare, reni, sangue, salsicce di sangue e prodotti a base di carne di suino. Le micotossine anche in questo caso possono essere introdotte dall'animale tramite il mangime e residue nelle carni. Un altro pericolo può essere connesso all'impiego di funghi (del genere *Penicillium* e *Aspergillus*) nella lavorazione dei prodotti carnei (ad es. salumi). Tra i vari prodotti citati il caffè ha ricevuto negli ultimi anni notevole attenzione ma dati recenti indicano che l'80% delle OTA presente è distrutto durante la torrefazione industriale e che il caffè venduto al dettaglio costituisce solo un contributo marginale all'assunzione quotidiana di OTA. Diversi riscontri di sorprendentemente alte concentrazioni di OTA sono stati, invece, rilevati nei frutti secchi derivati dalla produzione del vino (uva passa, uva sultanina) provenienti dalla Turchia e dalla Grecia (con percentuali di positività prossimi al 50% dei campioni esaminati).

Questa micotossina ha destato notevole attenzione a partire dal 1993 quando l'agenzia internazionale per la ricerca sul cancro (IARC) l'ha inclusa tra i possibili car-

cinogeni per l'uomo (gruppo 2B) in base ai chiari risultati di studi condotti su animali da laboratorio e agli incerti riscontri nell'uomo. Poiché l'OTA è presente in una grande varietà di matrici vegetali e alimenti, è stato suggerito di utilizzare il dato relativo alla sua concentrazione nel sangue umano come indicatore del livello di esposizione nella popolazione generale e nei lavoratori agricoli (Degen et al., 2007). Analisi di campioni provenienti da diverse regioni europee hanno evidenziato come, frequentemente, il sangue di uomini in apparente buono stato di salute contenga la micotossina e i suoi metaboliti, la qual cosa confermerebbe una esposizione continua e su larga scala.



Figura 3.3 - *Penicillium* spp.;

fonte: <https://www.sciencephoto.com/media/890953/view/penicillium-fungus-illustration>)

I tricoteceni sono un gruppo di sostanze prodotte da varie specie fungine appartenenti ai generi *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Trichothecium*, alcuni di essi capaci di provocare gravi fitopatie nel frumento e nel mais ("fusariosi della spiga o scabbia") da più specie di *Fusarium*, prevalentemente il *graminearum*. Sono attualmente noti circa 170 tricoteceni che, in base alla diversa struttura chimica, si suddividono in due gruppi: i tricoteceni di tipo A che includono le tossine T-2, HT-2 e diacetossiscirpenolo (DAS); quelli del tipo B includono il deossinivalenolo (DON), noto anche come vomitossina, il nivalenolo (NIV) (spesso presente quale co-contaminante del DON), il 3-acetildeossinivalenolo (3-AcDON) e il 15-acetildeossinivalenolo (15-AcDON). La tossina con proprietà tossiche più spiccate è la tossina T-2, seguita dal DAS e dal NIV, mentre il

DON è la tossina più studiata in quanto riscontrabile negli alimenti in modo più diffuso, pur avendo mostrato una bassa tossicità acuta. Queste micotossine sono state ritrovate frequentemente in cereali (frumento, mais, orzo) e derivati dei cereali (prodotti da forno, birra) provenienti da quasi tutte le regioni del mondo con a volte livelli di contaminazione particolarmente elevati (ppm o parti per milione); alti livelli di T-2 e DAS sono stati anche rilevati nelle banane (Chakrabarti and Ghoshal, 1986). Residui di DON nella carne, latte e uova non sembrano destare preoccupazioni.

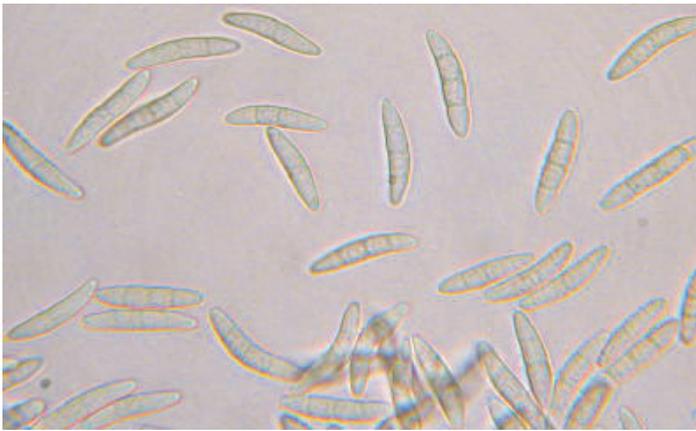


Figura 3.4 - *Fusarium graminearum*;

fonte: https://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal_detail.jsp?id=FU201505260896#

Lo zearalenone (ZEA) anche conosciuto come tossina F-2 è prodotto da alcune specie di *Fusarium*, quali *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense* che frequentemente colonizzano in tutto il mondo le colture di cereali. Sebbene i cereali contaminati in campo possono accumulare ZEA prima del raccolto, numerosi esperimenti indicano che gli alti livelli di tossina presenti nei campioni di mangimi a base di mais conseguono ad una inidonea conservazione piuttosto che ad uno sviluppo sul campo. Ad esempio, mais infetto conservato in capannoni all'aperto e soggetto a temperature fluttuanti si è visto contenere alte concentrazioni di zearalenone. In molti studi è stata riportata la coesistenza della tossina F-2 con altre micotossine, in particolare con NIV e DON (tutte prodotte dalle stesse specie di *Fusarium*). Lo ZEA è stato anche evidenziato nella birra, nelle banane, nella soia, nelle noci, nella farina di manioca ecc. Il passaggio dello ZEA nel latte è trascurabile ed i residui nella carne e nelle uova non sembrano costituire un problema per la salute del consumatore.

Le Fumonisine rappresentano le micotossine del *Fusarium* (soprattutto *F. verticilloides* e *F. proliferatum*) più diffuse nel mais e suoi derivati provenienti quasi da ogni parte del mondo. Le Fumonisine attualmente studiate sono la Fumonisina B1 (FB1, la più tossica), B2 e B3. Da quando metodi analitici idonei sono stati testati e resi disponibili, sembra che la presenza delle Fumonisine sui cereali sia ovunque, costantemente riscontrabile con l'eccezione di aree particolarmente fredde quali quelle del nordest europeo ed il Canada. Prodotti cereali raffinati per il consumo umano (polenta, semolino, farina di mais, fecola di mais, farina di avena, fiocchi di mais) sono generalmente contaminati a livelli al di sotto dei $100\mu\text{g kg}^{-1}$, sebbene singoli prodotti, in specifiche regioni, possono raggiungere livelli più alti di contaminazione (alte concentrazioni di FB1 sono state evidenziate in campioni di polenta in alcune regioni del nord Italia). Questo ritrovamento assume particolare importanza in quanto precedenti indagini hanno ipotizzato l'esistenza di una correlazione tra gli alti livelli residuali nella polenta, alimento che rientra nella dieta delle regioni del nordest del nostro Paese e un aumentato rischio di cancro esofageo (Visconti et al., 1995).

Per quanto concerne la presenza della micotossina nelle matrici alimentari di origine animale, studi sul suo riscontro nel latte suggeriscono che la contaminazione del latte crudo è teoricamente possibile, ma la presenza di irrilevanti quote residuali dopo somministrazione per via orale o endovenosa consente di affermare che non sussiste un reale pericolo per il consumatore.

La Patulina è spesso evidenziata sulla frutta e nei succhi di frutta. La micotossina è, inoltre, rinvenibile sui peperoni, pomodori, cetrioli e carote. La crescita fungina e la conseguente produzione di patulina si realizza sulla superficie danneggiata del frutto, sebbene la sua presenza in punti visibilmente integri non può essere esclusa. In condizioni sperimentali, la tossina può essere prodotta da differenti specie fungine su mele, granaglie e perfino su prodotti refrigerati come formaggi e carni salate o affumicate, ma in condizioni naturali si ritrova come contaminante principalmente delle mele e del succo di mela. A volte sono stati osservati livelli di patulina, nei succhi di mela derivanti da frutti danneggiati e nel sidro di mela prodotto industrialmente con frutti non selezionati all'inizio del ciclo produttivo. Questo dimostra che un efficiente controllo della contaminazione da patulina dipende primariamente dalla selezione e dalle pratiche manuali precedenti la lavorazione meccanizzata anche perché la tossina è resistente ai trattamenti termici e rimane relativamente stabile in condizioni di acidità.

È necessario sottolineare che diversi studi hanno messo in evidenza come la contaminazione degli alimenti con alcune micotossine determini anche alterazioni delle caratteristiche qualitative e nutrizionali degli alimenti stessi. In particolare, è stata osservata negli alimenti contaminati da aflatossine, una riduzione del valore nutritivo del 5-10%; una riduzione del 7% della quota proteica e un decremento della percentuale di grassi.

3.2. Tossicocinetica delle micotossine e principali micotossicosi di interesse medico e medico-veterinario

Tra le micotossine maggiormente oggetto di studio perché indicate come agenti eziologici di diverse patologie in campo sia medico che veterinario consideriamo le Aflatossine, le Ocratossine, lo ZEA, i Tricoteceni, le Fumonisine e altre micotossine (rubratossine, tossine tremorgeniche, sporidesmina, slaframmina, patulina) derivanti dall'attività metabolica di funghi dei generi *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* ecc. Considerando la notevole diffusione in natura delle micotossine nelle derrate alimentari principalmente di origine vegetale ma anche di derivazione animale, assume particolare importanza capire il potenziale di tossicità e il destino nell'organismo di questi composti. Tali informazioni costituiscono un prerequisito fondamentale, per una più consapevole valutazione dei rischi associati ad una esposizione a tali contaminanti non solo attraverso la dieta ma anche attraverso le altre potenziali vie di introduzione. Il destino di una micotossina in un organismo vivente è il frutto dei processi di assorbimento, distribuzione tessutale, biotrasformazione e dei processi di escrezione che, per gli animali, comprendono anche il passaggio dei metaboliti nelle produzioni quali carne, uova e latte. L'assorbimento delle micotossine avviene principalmente per via gastrointestinale (in seguito al consumo di alimenti di origine vegetale contaminati dalle micotossine o l'ingestione di latte e derivati, carni, insaccati, ecc. derivanti da animali alimentati con mangimi contaminati). Tuttavia, negli ultimi anni sempre maggiore attenzione sta suscitando la possibile esposizione per via respiratoria attraverso l'inalazione di spore fungine tossinogene o micotossine presenti in elevate concentrazioni sia in particolari ambienti di lavoro (nelle polveri che si sollevano durante le diverse operazioni e pratiche agricole) sia in ambienti domestici umidi e poco aerati (Figura 3.6).

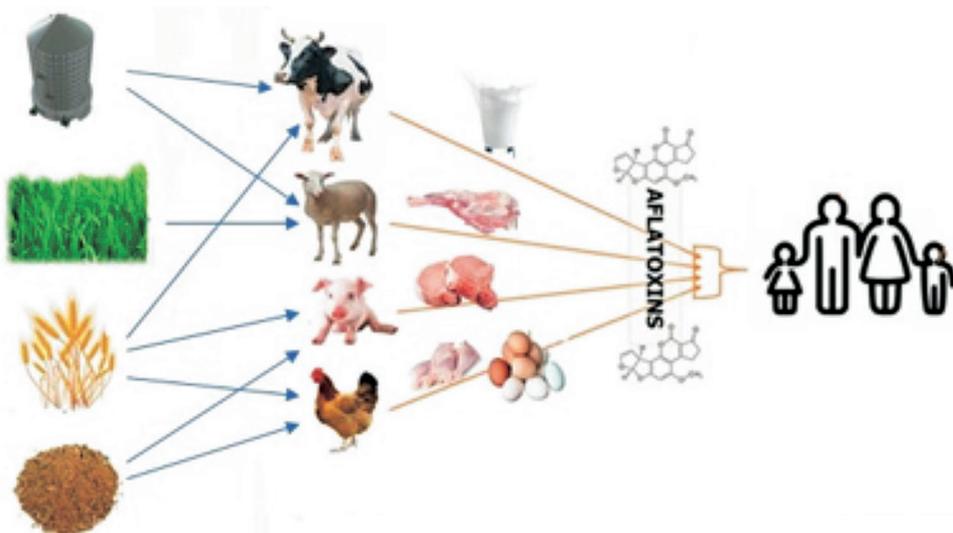


Figura 3.5 - Modalità principali di esposizione alle micotossine, esempio riguardante le aflatossine

Le molecole lipofile e di basso peso molecolare come le AF e lo ZEA diffondono passivamente e completamente attraverso la mucosa gastrointestinale (raggiungendo una biodisponibilità del 65%), mentre la forma non ionizzata dell'OTA, degli acidi penicillici, e della citrinina, attraversano le membrane lipidiche per diffusione semplice. Dopo assorbimento le tossine convogliate nel circolo sanguigno, possono interagire con le cellule ematiche o con le proteine plasmatiche. L'AFB1 ad es. si lega alle albumine seriche e compete come l'OTA, con il fenilbutazone (un antinfiammatorio non steroideo) a causa di una comune alta affinità per lo stesso sito di legame sulla proteina risultandone significative interazioni (farmaco)-tossicologiche. Altre tossine come lo ZEA si legherebbero invece più specificamente a componenti della membrana eritrocitaria. Alcuni metaboliti (AFB1, FB1, acido penicillico) vengono rapidamente metabolizzati e eliminati, mentre la citrinina, la rubratossina e l'OTA sono caratterizzati da più lunghi tempi di permanenza nell'organismo. Le biotrasformazioni sono considerate come i processi enzimatici (idrolisi, riduzione, coniugazione) che mirano alla costituzione di metaboliti idrosolubili e atossici quali ad es. gli ideepossitricoteceni, l'ocratossina α , l'aflatossicolo, i glucuronidi di tricoteceni o zearalenone, i glutatione coniugati dell'AFB1. Queste fasi si realizzano prevalentemente a livello epatico ma anche a livello gastrointestinale e, nei poligastrici, nel rumine per azione di una microflora che ha sviluppato una intensa attività catalitica. L'AFB1 nella maggior parte delle specie, si concentra nel fegato sia a causa dell'attivo metabolismo d'organo, sia a causa dell'alta permeabilità della membrana epatocitaria stabilendo legami covalenti con le macromolecole. I sistemi enzimatici ossidativi, inclusi i sistemi citocromo P450 dipendenti, producono, in alcuni casi, metaboliti più tossici delle molecole di partenza come i derivati idrossilati e gli epossidi (AF, fusarina C, Tricoteceni, ecc). Nel tessuto polmonare umano, infine, l'AFB1 sarebbe attivata maggiormente attraverso la via prostaglandina-H-sintetasi e/o per la via lipossigenasi, anch'essi in grado di catalizzare l'ossidazione di AFB1 ad AFB1-eossido, responsabile degli effetti cancerogeni (Massey et al., 1995).

Le micotossine possono essere distinte in quelle che necessitano di un'attivazione metabolica per indurre gli effetti tossici e quelle che non la richiedono (ad es. le Fumonisine). Al secondo gruppo appartengono micotossine che dopo i processi di biotrasformazione (bioinattivazione) mostrano una ridotta tossicità. In alcuni casi la molecola parentale possiede un gruppo reattivo che gli conferisce proprietà tossiche dirette (il DON presenta un gruppo eossido peculiare delle tossine che subiscono una attivazione metabolica). Tra le micotossine che richiedono un'attivazione metabolica per esplicitare i loro effetti tossici deve essere prima di tutto considerata l'AFB1. Il metabolismo particolarmente complesso di tale micotossina comprende processi di detossificazione reversibile con formazione di aflatossicolo (catalizzata da enzimi citosolici), di detossificazione non reversibile con la formazione di metaboliti idrossilati (M1 P1 e Q1), e di attivazione con formazione dell'8,9-eossiderivato (catalizzati dagli enzimi epatici a funzione ossidasica mista, citocromo P-450 dipendenti). Le risposte biologiche all'AFB1 in termini di genotossicità e di citotossicità, dipendono dalla formazione metabolica degli epossidi, quindi, la

diversa sensibilità alla tossina è strettamente correlabile all'attività metabolica della frazione microsomiale epatica e all'intensità dei meccanismi di detossificazione degli stessi epossidi.

Le micotossine ed i loro metaboliti vengono fundamentalmente escreti per via fecale e urinaria quest'ultima risultando la via più efficiente nel caso di micotossine che subiscono assorbimento completo e intensa metabolizzazione (AFB1, citrinina, OTA, patulina, ZEA). L'eliminazione per via fecale è invece il risultato di uno scarso assorbimento gastrointestinale, o di una efficiente escrezione biliare della micotossina e dei suoi metaboliti. È stato descritto anche il costituirsi di un circolo enteroepatico per l'OTA e per lo ZEA la qual cosa contribuisce all'accumulo delle tossine (ad esempio, lo ZEA può accumularsi nelle uova e più specificamente nel tuorlo a causa della sua natura lipofila). L'OTA, lo ZEA ma soprattutto l'AFB1, insieme ai loro metaboliti tossici possono essere eliminati, in misura diversa, con il latte in quanto tali molecole nella forma non ionizzata possono attraversare la barriera sangue-latte. L'AF quindi, può essere assunta dai neonati attraverso il latte materno contribuendo al determinismo di una alta mortalità infantile (principalmente nei Paesi africani Ghana, Benin, Togo) e al consolidarsi di uno stato di salute precario nei bambini. È stato spesso evidenziato infatti come i livelli di AF consentiti nei prodotti alimentari e stabiliti in accordo con la World Health Organization (WHO) sono in genere superati nei Paesi dell'Africa dell'est e alcuni studi mostrano come le popolazioni assumano alte concentrazioni di AFB1 dalla nascita.

Le micotossicosi sono intossicazioni acute e croniche determinate dall'esposizione alle micotossine (in genere attraverso l'ingestione di alimenti/mangimi contaminati). Si tratta di malattie non trasmissibili, non epidemiche che non rispondono alle normali terapie, che hanno un andamento spesso stagionale di tipo ciclico (Tabella 3.1).

Tabella 3.1 - Principali malattie riscontrate nell'uomo associate al consumo di alimenti contaminati da micotossine

MALATTIA	ALIMENTO	AGENTE EZIOLOGICO
Alimentary Toxic Aleukia (ATA)	Cereali	<i>Fusarium spp.</i>
Nefropatia Endemica dei Balcani	Cereali	<i>Penicillium spp., Aspergillus ochraceus</i>
Ergotismo	Segale	<i>Claviceps purpurea</i>
Fusariotossicosi	Cereali	<i>Fusarium spp.</i>
Patologia di Kashin-Beck	Cereali	<i>Fusarium spp.</i>
Tumore esofageo	mais	<i>Fusarium verticillioides</i>
Epatocarcinoma (afлатossicosi)	Cereali, arachidi	<i>Aspergillus flavus, A. parasiticus</i>
Kwashiorkor	Cereali	<i>Aspergillus flavus, A. parasiticus</i>
Sindrome di Reye	Cereali	<i>Aspergillus flavus, A. parasiticus</i>
Onyalai	Miglio	<i>Phoma sorghina</i>

A causa dell'elevata diversità strutturale, le micotossine sono in grado di provocare gravi disordini e sintomi di tossicità acuta a livello di differenti sistemi anatomici e organi, quali sistema cardio-circolatorio, sistema riproduttivo, sistema nervoso centrale, sistema immunitario ed endocrino, fegato, reni, intestino, epidermide e polmoni (che possono diventare organi target primari delle micotossine in seguito a contatto o inalazione) (Richard, 2007). Oltre ad una tossicità acuta o subacuta, le micotossine sono responsabili anche di una tossicità cronica come conseguenza di un'esposizione protratta nel tempo a multiple e basse concentrazioni. Relativamente agli effetti cronici, le micotossine possono essere mutagene, genotossiche, cancerogene, teratogene, immunosoppressive e/o avere effetti ormonosimili (estrogenici). Alcune di esse interagiscono producendo un effetto sinergico ad esempio sulla funzionalità del sistema immunitario in seguito ad un'esposizione combinata all'AFB1 e alla tossina T-2.

La tossicità di alcune micotossine può essere attribuita alla omologia strutturale con metaboliti endogeni: infatti la somiglianza dell'OTA con la fenilalanina spiega in parte l'effetto nefrotossico che risulta dalla inibizione della sintesi proteica dovuta alla competizione con lo specifico t-RNA. Altre micotossine devono la loro tossicità ad un'alterazione di normali processi ormonali: lo ZEA ad es. presenta un'alta affinità per i recettori per gli estrogeni. Il processo metabolico che risulta nella formazione dell' α e β ZEA si realizza in differenti proporzioni negli animali e nell'uomo costituendo un importante fattore discriminante nell'induzione degli effetti tossici poiché l' α ZEA si lega molto più intensamente ai recettori rispetto al secondo isomero che non mostra attività estrogeniche.

Il fegato è il principale organo target delle micotossine introdotte per via orale, seguono nell'ordine il rene, l'intestino, il sangue, l'apparato riproduttore, il sistema nervoso centrale e il sistema immunitario. Le micotossine con la loro peculiare struttura chimica sono capaci di reagire con diversi tipi di recettori molecolari inclusi quelli del DNA, dell'RNA, proteine funzionali, cofattori enzimatici e costituenti di membrana. Le reazioni che hanno luogo possono essere classificate come non covalenti-reversibili e covalenti-irreversibili: nel primo caso si formano specifici complessi con i recettori (non più disponibili ad altri legami) in modo analogo a quanto avviene con i substrati endogeni; nel secondo caso ha luogo la costituzione di addotti (derivanti dal legame dei metaboliti attivi con i centri nucleofili delle molecole recettoriali, solitamente azoto, ossigeno ed eteroatomi di zolfo delle proteine e degli acidi nucleici). Quando l'adduzione si realizza a livello del sito attivo di un recettore critico, o, comporta un suo significativo cambiamento strutturale, essa induce un danno biochimico alterando la funzione recettoriale.

I cambiamenti nella struttura delle molecole di DNA e RNA operata dagli addotti, può risultare sia in una inibizione della sintesi di queste macromolecole e delle proteine in genere (l'AFB1 inibisce la sintesi di DNA bloccandone la trascrizione da parte della RNA polimerasi DNA dipendente) sia in mutazioni a carico del patrimonio genetico cellulare. Uno dei principali effetti tossici causati dalle micotossine è quello cancerogeno va infatti ricordato che l'AFB1 è il più potente agente cancerogeno

geno naturale a tropismo epatico oggi conosciuto. Ad azione epatocancerogena anche l'AFG1, e M1, la fusarina C e la sterigmatocistina che hanno dato risultati positivi ai saggi di genotossicità a breve termine e ai test di mutagenicità (test di Ames). La genotossicità dei tricoteceni, dell'OTA e dello ZEA risulta dubbia ma è stata comunque ormai accertata una loro funzione quale promotori tumorali. Le micotossine (AF, rubratossine, tricoteceni) inibiscono la biosintesi di proteine cellulari modificando la funzione di "sagoma" del DNA, inibendo la sintesi dell'RNA, inattivando sistemi enzimatici e impedendo il trasporto di aminoacidi. L'OTA come abbiamo già detto inibisce specificamente e competitivamente l'attività della fenilalanil-tRNA-sintetasi mentre i tricoteceni in virtù dell'affinità chimica della tossina ai ribosomi inibiscono la sintesi proteica selettivamente nelle cellule eucariotiche. L'inibizione della sintesi cellulare di macromolecole conseguente ad esposizioni acute risulta nella deplezione di tali fondamentali molecole (soprattutto proteine funzionali), con conseguente morte cellulare. Il tessuto danneggiato stimolerebbe l'insorgenza di un processo infiammatorio, con perdita di fluidi corporei ed emorragia (uno dei sintomi più comuni in corso di micotossicosi). Un'altra conseguenza dell'inibizione della sintesi proteica è la soppressione o l'alterata composizione delle proteine umorali, importanti nei meccanismi di difesa immunitaria aspecifica. Dosi subacute di AFB1 possono causare un danno alla risposta immunitaria cellulo-mediata (inibizione della fagocitosi), carenza di complemento, ritardi nella produzione di IFN- γ , mentre a più basse dosi la micotossina riduce i livelli di IgA e di IgG circolanti. L'OTA e i tricoteceni sono altamente immunotossiche potendo anche a bassi dosaggi sopprimere la produzione anticorpale. È inoltre verosimile che oltre ad un effetto sull'immunità sistemica le tossine abbiano un iniziale effetto sui tessuti linfoidi mucosali (in particolare intestinali e bronchiali) prima che vengano assorbiti e metabolizzati. Questo aspetto del problema risulta di particolare interesse considerando il frequente rischio di esposizione per inalazione alla polvere di granaglie. L'inibizione della produzione di energia cellulare è un'altra delle conseguenze dell'esposizione acuta alle micotossine. Diverse micotossine sono risultate potenti inibitrici degli enzimi coinvolti nel ciclo dell'acido tricarbossilico e nella catena del trasporto degli elettroni a livello mitocondriale con conseguente blocco della respirazione cellulare. Alcune micotossine (AFB1, M1, OTA) disaccoppiano la fosforilazione ossidativa e/o alterano gli enzimi di membrana responsabili dell'idrolisi dell'ATP finalizzata alla liberazione di energia per il trasporto di cationi attraverso la membrana cellulare (AFB1, rubratossina B). I tricoteceni possono ugualmente agire a livello di membrana aumentando la permeabilità delle pareti dei vasi sanguigni e dell'epitelio della mucosa intestinale, causando perdita di plasma nel lume intestinale e diarrea.

Le AF, l'OTA, la rubratossina B e la micotossina T-2 alterano il metabolismo lipidico danneggiando il trasporto dei lipidi più che la loro biosintesi (causa di degenerazione grassa del fegato), le stesse micotossine inibiscono la gluconeogenesi riducendo i depositi di glicogeno epatico e aumentando i livelli sierici di glucosio.

Per quanto riguarda gli effetti sulla sfera ormonale l'AFB1 ha mostrato la proprietà

di ridurre i siti nucleari accettori dei complessi ormone (glucocorticoidi)-recettore, mentre l'AFM1 compete con l'estradiolo per il sito recettoriale citosolico uterino. Lo ZEA e i suoi derivati sono composti ad intensa attività estrogenica in quanto capaci di adottare una conformazione che essendo molto simile a quella del 17 β -estradiolo e di altri estrogeni naturali, consente il loro legame ai recettori estrogenici. Tali metaboliti sono perfino capaci di influenzare i meccanismi di feedback ormonale, attraversando la barriera emato-encefalica e raggiungendo i siti specifici regolatori a livello ipotalamico e ipofisario.

Un altro aspetto della tossicità delle micotossine è quello che si osserva a carico del comparto ematico. Possiamo dividere le micotossine in tre gruppi: un primo gruppo cui appartengono tossine per le quali non sono stati descritti in letteratura effetti ematotossici (patulina, fumonisine); un secondo gruppo cui appartengono l'OTA, l'AFB1 e lo ZEA che causano effetti ematotossici secondari; ad un terzo gruppo di micotossine ad attività principalmente ematotossica di cui fanno parte i tricoteceni. Lo ZEA provoca una riduzione del numero delle piastrine, degli eritrociti e del contenuto di emoglobina; l'OTA, in seguito ad esposizione cronica, determina un effetto mielotossico con una diminuita sintesi dei precursori degli eritrociti, delle cellule bianche e dei megacariociti. L'ematotossicità dell'AF è caratterizzata principalmente da disturbi della coagulazione e mielotossicità che interessa soprattutto la linea granulocitaria (tali effetti appaiono connessi all'inibizione della sintesi proteica e quindi anche alla diminuita sintesi dei fattori della coagulazione). I tricoteceni in quanto potenti inibitori della sintesi proteica negli organismi eucariotici, provocano gravi danni a carico delle cellule in intensa attività mitotica (timo, milza, midollo e testicolo) risultandone tra l'altro, trombocitopenia e leucopenia. L'azione emolitica della tossina T-2 sarebbe invece da attribuire alla perossidazione dei lipidi di membrana, indotta da radicali liberati in seguito alla penetrazione della micotossina nel bilayer fosfolipidico.

Dati recenti mostrano come fattori ambientali che includono la dieta e i suoi nutrienti possano avere significativi effetti sulla risposta dell'organismo ai metaboliti fungini. Nel caso specifico ad es. delle aflatossicosi oltre ad un effetto protettivo svolto dagli estrogeni naturali che rendono le femmine più resistenti agli effetti tossici acuti e carcinogenici, è stata osservata l'azione protettiva di un corretto apporto di proteine, vitamina A, agenti lipotropici e selenio nella dieta (metionina, colina, folato e vitamina B12). Le nitrosamine invece mostrano un effetto cancerogeno sinergico quando assunte in concomitanza all'AFB1.

La sintomatologia evidenziabile in corso di aflatossicosi è direttamente correlata ai vari meccanismi di tossicità esposti. Oltre all'azione genotossica ed epatocancerogena, gli altri effetti tossici sono riconducibili ad epatotossicità, iperplasia dei condotti biliari, emorragia del tratto gastrointestinale e dei reni. Oltre all'uomo, gli animali più sensibili sono la trota, l'anatroccolo (impiegato spesso nell'esecuzione di test biologici) il tacchinotto, mentre i bovini come gli ovini mostrano una marcata resistenza. Controversi sono gli studi relativi alla cancerogenicità dell'AFB1 per il polmone, sebbene esistano dati a supporto dell'attivazione della sostanza nel trat-

to respiratorio ad opera del sistema citocromo P450, inoltre sarebbe carente, nel polmone una via metabolica utile a degradare il tossico (l'attività di coniugazione Glutathione-S-transferasi citosolica) presente, invece, a livello epatico rendendo ancor più suscettibile tale apparato alla sua azione cancerogena.

L'OTA esplica la sua tossicità acuta particolarmente intensa sull'epitelio dei tubuli contorti prossimali del rene ma anche sulle cellule epatiche. Tra i mammiferi il suino è l'animale più sensibile con una funzionalità renale compromessa fino all'insorgenza di una sindrome uremica. La "nefropatia micotossica" del suino molto diffusa nel nord Europa, e comparabile nell'uomo alla "nefropatia endemica dei balcani", è probabilmente indotta, nella sua forma spontanea, dalla contemporanea introduzione della citrinina, prodotta anch'essa dal *Penicillium viridicatum*. Sono stati evidenziati inoltre effetti embriotossici per passaggio attivo transplacentare e in diverse specie animali e nell'uomo e gravi rischi per il neonato.

Gli spiccati effetti estrogenici dello ZEA hanno fatto ipotizzare la sua azione tossica nello sviluppo di patologie quali il telarca precoce. La diagnosi di avvelenamento da ZEA negli animali domestici risulta particolarmente semplice per la caratteristica sindrome di tipo estrogenico che colpisce entrambi i sessi di tutte le specie d'interesse zoeconomico ed in modo più marcato il suino.

Tra i tricoteceni, la tossina T-2 è quella con le proprietà tossiche più marcate, seguita dal DAS e dal NIV, mentre il DON è la tossina che ha suscitato maggiore interesse in quanto riscontrabile negli alimenti in modo più diffuso, pur avendo mostrato una bassa tossicità acuta. Gli effetti tossici sull'uomo riferibili alle tossine di questo gruppo includono nausea, vomito, disordini gastrointestinali e cefalea. La tossina T2 e il fusarenone X causano un aumento della permeabilità della parete dei vasi sanguigni con perdita di plasma nel lume intestinale e diarrea (spesso emorragica), mentre il DON agisce sui chemiocettori della trigger zone del midollo allungato del sistema nervoso centrale inducendo marcata emesi. I tricoteceni possiedono inoltre una tossicità dermica che si manifesta con macchie rosse sulla pelle e reazioni infiammatorie diffuse dei tessuti esposti.

Le fumonisine sono state strettamente associate a diverse patologie di interesse medico veterinario quali la leucoencefalomalacia del cavallo e l'edema polmonare del suino. Inoltre, l'alta incidenza di carcinomi dell'esofago riscontrata in alcune regioni asiatiche e in alcuni villaggi del Transkei in sud Africa è stata posta in relazione al consumo di birra derivante da un infuso di mais ammuffito e contenente il metabolita fungino. In seguito al consumo di alimenti e mangimi contaminati si è osservato sperimentalmente il manifestarsi di altri effetti tossici nell'uomo e in diverse specie animali su vari organi (polmone, fegato, rene e cervello) e sul sistema immunitario.

A causa della somiglianza strutturale con le basi sfingoidi a catena lunga (sfinganina e sfingosina), le Fumonisine intervengono direttamente nel metabolismo degli sfingolipidi complessi, inibendo competitivamente la ceramide sintasi (sfinganina-sfingosina N-aciltrasferasi), inducendo una ridotta biosintesi di sfingolipidi ed un accumulo di basi sfingoidi libere a catena lunga (composti altamente bioattivi e

citotossici). Risulta quindi evidente che la deplezione degli sfingolipidi associata all'accumulo nei tessuti, nel sangue e nelle urine di sfinganina e sfingosina possa considerarsi alla base dei meccanismi patogenetici della micotossicosi. La FB1 non ha effetti ematotossici, né mutageni, né genotossici. Poco si conosce circa il meccanismo di carcinogenicità. È stato ipotizzato che l'attitudine a stimolare la proliferazione cellulare comportandosi da promotore tumorale e la capacità di reprimere l'espressione della proteina kinasi C alterando le vie di trasduzione che da essa dipendono, giochino un ruolo primario nel meccanismo carcinogenetico della FB1. Il recente riconoscimento del ruolo ricoperto dalla micotossina nella modulazione e nell'espressione di enzimi (iNOS, eNOS e COX-2) coinvolti nelle funzioni di difesa immunitaria consente di affermare che la FB1 influenza significativamente le attività di difesa cellulo-mediata del sistema immunitario. (Meli et al., 2000).

Uno dei problemi legati allo studio della tossicosi da FB1 e per i quali le ricerche documentate fino ad oggi continuano ad offrire punti di vista conflittuali, consiste nel fatto che la maggior parte degli studi sono condotti con alimenti addizionati con colture di *Fusarium moniliforme* e non con FB purificate. Analogamente a quanto accade negli studi in vivo condotti su altre micotossine, le fonti utilizzate verosimilmente contengono numerosi altri metaboliti fungini e/o altri tipi di composti chimici responsabili di effetti sinergici e di implicazioni tossicologiche. La riproduzione sperimentale di una micotossicosi comporta quindi spesso delle difficoltà sia per l'attribuzione degli effetti riscontrati ad un agente fungino piuttosto che ad un altro, sia per la disagiata riproduzione della sintomatologia dell'intossicazione spontanea.

Tabella 3.2 - Micotossine, specie fungine produttrici, effetti tossici e gruppo IARC di inserimento per l'attività cancerogena (Catanante et al., 2016)

Micotossina	Specie fungina	Effetti tossici	Gruppo IARC
<u>Aflatossine</u>	Aspergillus flavus, A. nomius, A. parasiticus, A. arachidicola, A. bombycis, A. pseudotamarii, A. minisclerotigenes, A. rambellii, A. ochraceoroseus	Immunosoppressione, cancerogenicità, teratogenicità, epatotossicità, mutagenicità	1,2 B
<u>Ocratossine</u>	A. ochraceus, A. alutaceus, A. alliaceus, A. niger, A. carbonarius, A. melleus, A. albertensis, A. citricus, Penicillium viridicatum, P. verrucosum, P. cyclopium, P. carbonarius	Immunosoppressione, cancerogenicità (tumori tratto urinario), teratogenicità, epatotossicità, mutagenicità, epatotossicità, nefrotossicità, inibizione della sintesi proteica	2 B
<u>Fumonisine</u>	Fusarium anthophilum, F. moniliforme, F. dlamini, F. napiforme, F. proliferatum, Alternaria alternata	Cancerogenicità (tumori epatici, renali, esofagei), epatotossicità, edema polmonare (suino), leucoencefalomalacia (cavallo)	2 B
<u>Tricoteceni</u>	Fusarium sporotrichioides, F. poae, F. culmorum, F. equiseti, F. graminearum, F. cerealis, F. moniliforme	Perdita di peso, diarrea, vomito, emorragie gastrointestinale, immunosoppressione, mutagenicità, neurotossicità	3
<u>Zearalenone</u>	F. graminearum, F. culmorum, F. crookwellense, F. equiseti, F. sporotrichioides	Infertilità, edema vulvare, prolasso vaginale ed ipertrofia mammaria nelle femmine, femminilizzazione nel maschio	2 B
<u>Patulina</u>	A. clavatus, A. longivesica, A. terreus, P. expansum, P. griseofulvum, Byssoschlamys sp	Immunosoppressione, genotossicità, teratogenicità, cancerogenicità, nausea vomito, edema cerebrale e polmonare, convulsioni, danno capillare	3

Internazionale per la valutazione del comfort in condizioni ambientali differenti. In particolare nella sezione 3.1 viene approfondito l'indice PMV (Predicted Mean Vote), oggetto della norma UNI EN ISO 7730, validato per ambienti termo-igrometricamente controllati. Nella sezione 3.4 vengono invece presentati brevemente indici (Heat Index, Humidex) adeguati per ambienti moderabili ma non moderati. Si tratta di ambienti nei quali, tipicamente per deficienze organizzative/gestionali, pur in assenza di vincoli allo stabilirsi di condizioni di comfort, non è raro riscon-

trare forti deviazioni da condizioni di accettabilità. Non di rado anche ambienti ad alto tasso di sensibilità, ad esempio le scuole (Giovinazzo et al. 2015) vanno a far parte di questa categoria.

Si è scelto di non trattare il Comfort Adattivo, una tematica molto diffusa per la gestione di ambienti termo-igrometricamente non controllati. L'approccio adattivo viene comunemente applicato in ambienti residenziali, specie di nuova concezione, ma risulta al contrario inadeguato in ambienti di lavoro dove si presta facilmente ad abusi. In particolare esso tende a dare enfasi ad aspetti soggettivi come l'adattabilità e la percezione di controllo, per ammettere condizioni termo-igrometriche decisamente lontane da quelle considerate confortevoli secondo l'approccio tradizionale. Per tale motivo, il Comfort Adattivo è stato escluso da questa trattazione. Si rimanda alla norma UNI EN 16798-1 per eventuali approfondimenti.

3.3. Buone pratiche agricole per la prevenzione e la riduzione della contaminazione da micotossine nei cereali

Negli ultimi anni è stata attribuita alla prevenzione della sintesi e della diffusione delle AF e delle altre micotossine negli alimenti destinati all'uomo e al bestiame un'importanza rilevante sia per le notevoli ripercussioni che le micotossicosi hanno sul piano sanitario ed economico, sia per l'inesistenza di una terapia farmacologica specifica. Risulta, quindi, innanzitutto importante la ricerca quali-quantitativa, meticolosa, dei metaboliti tossici negli alimenti per rilevarne i livelli di contaminazione. In secondo luogo, appare necessario adottare idonee misure di controllo finalizzate a contenere la contaminazione fungina. Molti studi, tra l'altro, sono stati e vengono tuttora compiuti con l'intento di individuare appropriate metodologie mirate all'inattivazione delle micotossine.

Le aziende di produzione di beni alimentari hanno l'obbligo di garantire l'immissione in commercio di alimenti di buona qualità, quanto più è possibile esenti da sostanze tossiche o comunque contenenti livelli tollerabili di contaminanti. L'attività produttiva condotta in maniera adeguata consente sia di ottenere una materia prima in buono stato dal punto di vista igienico sanitario, con un limitato tenore di micotossine e quindi più sicura per il consumatore finale, che di limitare l'esposizione occupazionale dei lavoratori del settore agro-zootecnico.

Da un'indagine FAO risulta che circa il 25% dei raccolti di derrate agrarie è contaminato da micotossine e, poiché la produzione di cereali nel mondo è appena sufficiente al consumo umano, risulterebbe problematico ed oltretutto antieconomico effettuare la distruzione dei cereali contaminati (Moretti et al., 2017). Poiché le micotossine possono essere sintetizzate sia in campo che durante lo stoccaggio del prodotto (prevalentemente cereali) o durante tutte le fasi di lavorazione, confezionamento e vendita degli alimenti, è necessario utilizzare sistemi di controllo integrato adeguati al tipo di prodotto alimentare e alla specifica micotossina considerata. Infatti, sia per la possibile coesistenza di più micotossine sull'alimento (a

volte senza che questi presenti ammuffimenti visibili), sia per l'ampia eterogeneità di struttura chimica (e di meccanismo d'azione) dei metaboliti tossici, non è possibile applicare un unico sistema di controllo che consenta di assicurare una ridotta presenza di tutte le micotossine nei vari prodotti alimentari e nei mangimi. Un possibile approccio al problema nasce dall'uso di un sistema integrato HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) che dovrebbe comprendere idonee strategie per la prevenzione ed il controllo-qualità in tutte le fasi della filiera produttiva, (con l'adozione di adeguate metodologie di lavorazione), dal campo al consumo finale, al fine di proteggere gli alimenti dagli eventuali pericoli di natura microbica e chimica. Tale piano di controllo dovrebbe, inoltre, essere differenziato nel caso di industrie che utilizzano tal quale il cereale da quelle che lo trasformano (produzione dell'amido o fermentazioni alcoliche), in quanto il tipo di lavorazione o di utilizzo del cereale stesso può diversificare la presenza e la diffusione delle micotossine presenti. Il principale e più accurato controllo deve avvenire, infatti, già in campo in quanto le micotossine possono essere sintetizzate da funghi fitopatogeni presenti nel terreno, anche se un non idoneo stoccaggio e/o una non corretta lavorazione o lunga conservazione delle derrate potrebbe ugualmente favorire la contaminazione fungina e una possibile, conseguente, produzione di micotossine. Di grande importanza è quindi l'adozione delle buone pratiche agricole (GAP, Good Agricultural Practices) in fase pre-raccolta e delle buone pratiche di produzione in fase post-raccolta e di stoccaggio (GMP, Good Manufacturing Practices) che consentono di limitare l'inevitabile contaminazione di questi inquinanti ubiquitari.

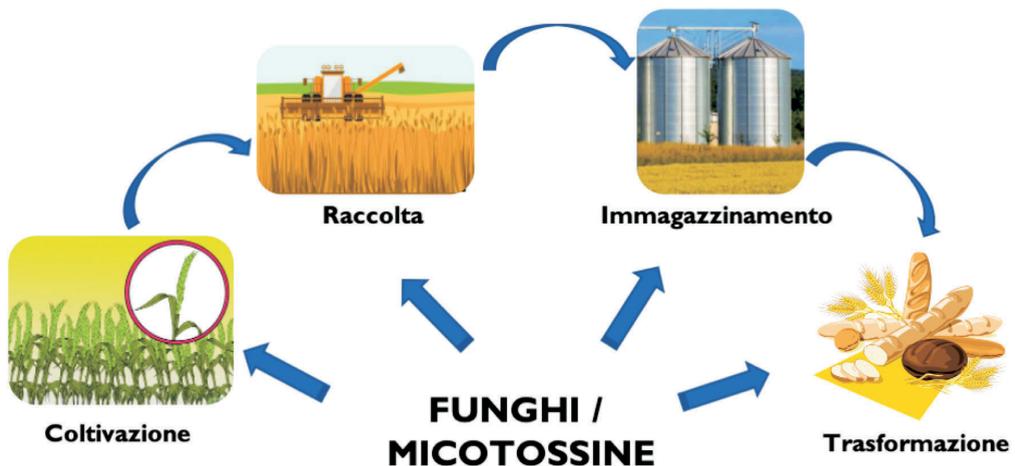


Figura 3.6 - Stadi della contaminazione da micromiceti e micotossine

a) Controllo pre-raccolta

Quando possibile, è opportuno coltivare varietà vegetali selezionate, dotate di una resistenza almeno parziale ai funghi e agli insetti nocivi e una minore capacità di accumulo delle micotossine. Le coltivazioni dovrebbero essere programmate per evitare temperature elevate e stress da siccità durante il periodo di sviluppo e maturazione dei semi. I modelli predittivi, quando disponibili, potrebbero essere utilizzati per pianificare il periodo più idoneo per effettuare la semina. Anche garantire un'adeguata densità di semina mantenendo la spaziatura più idonea per la specie coltivata costituisce un valido accorgimento.

I funghi di campo che colonizzano i cereali appartengono prevalentemente al genere *Fusarium* ed il loro attecchimento è condizionato da numerosi fattori quali la sensibilità del tipo di cereale all'agente patogeno, fattori stressanti la pianta che possono aumentare la recettività della pianta e dare luogo sul pericarpo a soluzioni di continuo che rappresentano una via di ingresso del fungo. Quindi, prima condizione indispensabile per poter migliorare la qualità del raccolto è rispettare le buone pratiche agronomiche (opportune concimazioni fosfo-azotate equilibrate, dissodamento del terreno, densità non elevate, lotta alle erbe infestanti), in modo da ridurre la carica fungina nel terreno. Asportare i residui colturali o interrarli perché questi contengono spore vitali che costituiscono il substrato per la contaminazione. Inoltre, si deve provvedere ad una rotazione colturale (alternanza di mais con orzo o soia) e alla lotta agli insetti (in particolare diabrotica, piralide del mais ed elateridi) in quanto anche questi possono essere vettori di spore fungine oltre che provocare lesioni all'integrità dell'involucro esterno della cariosside e facilitare l'attecchimento del fungo (Figura 3.8).

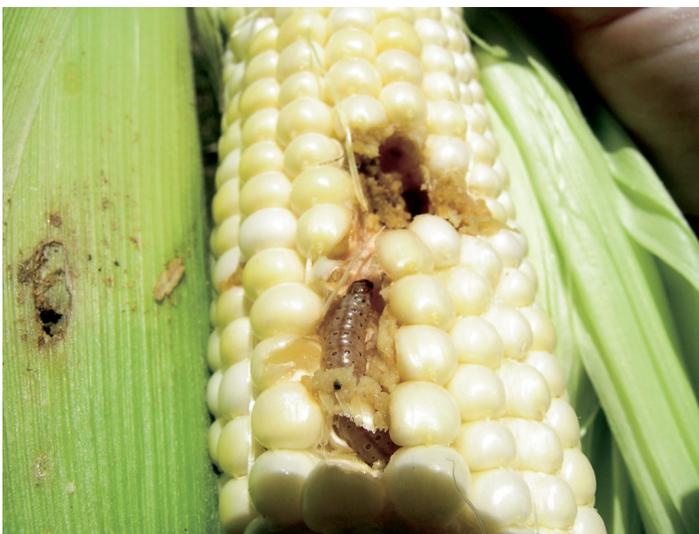


Figura 3.7 - Piralide del mais; fonte: <https://www.robodrone.it/piralide-del-mais-2/>

Nel caso delle Fumonisine è preferibile utilizzare miscele di principi attivi ad azione insetticida a lunga durata d'azione; il trattamento è decisamente efficace sugli individui adulti e meno quando la coltura è stata seminata tardivamente o la stagione è particolarmente calda. In genere, un'adeguata irrigazione evita lo stress dovuto alla siccità che favorisce lo sviluppo di fessurazioni della cariosside (condizione molto importante per la sintesi di AF, molto meno per quella di Fumonisine per le quali, l'irrigazione eccessiva, o le precipitazioni ripetute durante il periodo della fioritura, favoriscono la disseminazione fungina). L'avvicendamento colturale con colture che rilasciano pochi residui (oleaginose, bietola, orticole di campo) e il loro interrimento consentono una limitazione allo sviluppo dei funghi e impediscono alle larve di diabrotica di trovare radici con cui alimentarsi riducendo per un lungo periodo la popolazione larvale. Nel caso specifico del mais, che rappresenta il cereale più soggetto a contaminazione fungina, il periodo più favorevole per l'attecchimento fungino è la fioritura per cui, ad es. per le AF, le alte temperature durante la seconda parte della maturazione predispongono allo sviluppo della contaminazione fungina. Un'azione di controllo efficace a tal proposito sarebbe l'impiego di ibridi di mais a ciclo breve cioè in grado di fiorire prima che si raggiungano le temperature più alte. Se durante questo periodo si realizzano condizioni climatiche o ambientali predisponenti alla contaminazione fungina, si deve tempestivamente attuare un piano di controllo con trattamenti chimici antifungini o altri mezzi capaci di ridurre il rischio di contaminazione. In caso di forte infestazione di soggetti adulti di piralide e diabrotica è opportuno procedere al trattamento insetticida e con geodisinfestanti. La proliferazione e sviluppo del *Fusarium graminearum* (produttore di DON e ZEA) è favorita da temperature fresche per cui la maturazione del vegetale nel periodo autunnale o involontariamente slittata a causa di frequenti precipitazioni può costituire un problema con incrementi fino al 90% del grado di contaminazione (opportuna la scelta di colture a ciclo non lungo e con maturazioni non tardive). Se sono disponibili adeguate attrezzature per l'asciugatura meccanica, una raccolta anticipata potrebbe essere utile per limitare la produzione di micotossine durante le fasi finali della maturazione delle colture (facendo attenzione a evitare la contaminazione da IPA e diossine). Per quanto riguarda la lotta biologica, ci sono ricerche in corso indirizzate: all'uso in campo di ceppi di *Aspergillus flavus* non tossigeni che svolgano un'azione di competizione nei confronti di funghi tossigeni e che possano persistere per lungo tempo nel terreno; alla produzione di piante in grado di catabolizzare in situ la micotossina.

b) Controllo durante la raccolta

La raccolta delle granaglie può causare danni meccanici ai cereali che potrebbero rappresentare successivamente, nella fase di stoccaggio, vie di ingresso per le spore fungine. Per tale motivo si deve danneggiare il meno possibile la cariosside e questa fase deve avvenire al momento opportuno, cioè quando il cereale presenta dei valori di umidità o attività dell'acqua non troppo elevati. Di conseguenza è importante utilizzare velocità della mietitrebbia moderate (e preferire quelle a

flusso assiale e con sistemi di pulizia efficienti). Le procedure di raccolta devono avvenire il più tempestivamente possibile quando il vegetale è maturo e presenta un'umidità adeguata. Per le aflatossine, soprattutto in annate a rischio, è opportuno effettuare la raccolta quando l'umidità della granella non è inferiore al 20% (22-24%), in quanto con umidità inferiore e temperature elevate i funghi del genere *Aspergillus* si replicano velocemente anche per mancanza di un'azione competitiva operata da altre specie fungine che necessitano di una maggiore umidità del substrato. Importante, inoltre, è la repentina eliminazione dei residui colturali al fine di ridurre le possibili fonti di contaminazione fungina. Le granaglie raccolte devono essere rapidamente pulite ed essiccate in modo da evitare lo stoccaggio di cereali con un'elevata percentuale di umidità (è consigliabile infatti evitare di raccogliere il grano dopo le precipitazioni o con la rugiada del mattino o nel tardo pomeriggio). Inoltre, devono essere eliminate le cariossidi danneggiate, di diversa grandezza o raggrinzite che possono contenere micotossine.

I contenitori e i mezzi (camion, carri) utilizzati per la raccolta ed il trasporto del grano dal campo agli impianti di essiccazione e agli impianti di stoccaggio dopo l'essiccazione devono essere puliti, asciutti e privi di residui di colture, granaglie vecchie, polvere di grano, insetti.

c) Controllo nella fase dopo la raccolta

Nelle strutture di stoccaggio possono giungere partite molto diverse per livello di contaminazione e umidità. Risulta indispensabile in questa fase acquisire dati circa l'area di coltivazione, la % di umidità alla raccolta, le tecniche agronomiche adottate, calcoli previsionali, i livelli di contaminazione per unità campionarie rappresentative della partita. La segregazione all'accettazione e la pulizia nei centri di stoccaggio, come nelle fasi successive alla conservazione, può essere effettuata sulla base di diversi criteri. Fondamentale è l'ispezione visiva con selezione di semi, frutta secca o granaglie danneggiate che presentano dei difetti, spaccature o ammuffimenti, con conseguente cernita che può essere eseguita manualmente o meccanicamente, in modo da eliminare i cereali non integri o raggrinziti (tale procedura comporta una riduzione del 20-60% nel livello di Fumonisine). In questo modo viene impedito il loro ingresso nelle catene di approvvigionamento di alimenti e di mangimi. Ciò è particolarmente importante se il grano è destinato al consumo umano diretto piuttosto che alla trasformazione industriale.

Per evidenziare le AF, può essere osservata con lampada UV, entro 8 ore dal prelievo, la fluorescenza dell'acido kojico che è un altro metabolita fungino molto più concentrato e quindi più facilmente individuabile. Inoltre, la partita deve presentare condizioni che la rendono idonea alla conservazione: l'umidità deve essere inferiore al 20%; le provenienti condizioni agronomiche devono avere seguito le buone pratiche di coltivazione senza stress idrico e nutrizionale; i livelli di contaminazione rilevati con metodi di analisi qualitativi e semi-quantitativi (metodi immunoenzimatici, ELISA) devono indicare la presenza di livelli contenuti di micotossine. A tale proposito deve essere sottolineato come sia di fondamentale importanza la cor-

retta esecuzione della procedura di campionamento che deve essere accurato e rappresentativo di tutta la partita in quanto la contaminazione da micotossine non è omogenea ma a macchia di leopardo. In rapporto al grado di danneggiamento, si può decidere di non accettare la partita, oppure operare una selezione (manuale o meccanica) del materiale alterato. Per limitare la presenza di Fumonisine, DON e ZEA, si può adottare la cernita dopo segregazione per densità che consiste nell'eliminare le cariossidi che, in seguito a danneggiamento, presentano un peso inferiore con conseguente flottazione. La cernita può essere condotta anche tramite l'eliminazione delle cariossidi che presentano particolari caratteristiche legate alla presenza di alcune micotossine. Ad esempio, la presenza di aflatossine nel cereale sviluppa una fluorescenza (black light) che può essere evidenziata in particolare nel mais (possibili gli errori di valutazione conseguenti allo sviluppo di fluorescenze anomale non micotossine correlate). Prima dello stoccaggio dei cereali è importante controllare che la % di umidità nelle granaglie, non sia superiore al 14% (e una temperatura inferiore a 18°C), valore che rappresenta un limite di sicurezza che ostacola lo sviluppo della flora fungina di stoccaggio, rappresentata prevalentemente da funghi dei generi *Aspergillus* e *Penicillium*. Se i valori riscontrati nei cereali superano questo livello soglia, è opportuno effettuare adeguati trattamenti di essiccamento prima di stoccare le granaglie e, se non è possibile asciugare immediatamente il grano, aerarlo con circolazione d'aria forzata. Per limitare la presenza di Fumonisine, DON e ZEA sarebbe opportuno programmare le varie operazioni con il produttore, il trebbiatore e il centro di stoccaggio per non conservare oltre le 24 ore gli accumuli pre-essiccazione soprattutto in presenza di elevate temperature ambientali (26-28°C). Per i cereali da sottoporre ad insilamento, particolare cura deve essere posta al monitoraggio delle condizioni di stoccaggio, alle condizioni igieniche (rilevare odore, colore, possibili infestazioni), alla temperatura ed all'umidità del silos per evitare lo sviluppo di funghi tossinogeni e la proliferazione di insetti e roditori che possono creare condizioni microclimatiche favorevoli alla proliferazione fungina. Di grande importanza quale strategia di controllo delle fusario-tossine è l'impiego di apparati di pulizia (aspiratori, spazzolatrici, soffiatori) sia pre-essiccazione che post-essiccazione e pre-stoccaggio per rimuovere meccanicamente polveri, cariossidi leggere e danneggiate che devono essere rapidamente allontanati perché veicolano spore fungine. Il processo di essiccazione della granella deve essere adeguato e portare a livelli di umidità inferiori al 15%. Rilevante importanza ha anche l'impiego di silos e capannoni dotati di sistema di ventilazione e/o refrigerazione, ed effettuare spostamenti periodici della massa associate a pulizie meccaniche per evitare la formazione di aree di condensa e/o l'accumulo di particelle fini che può determinare un aumento della temperatura e favorire la proliferazione del *Fusarium*. Le strutture di stoccaggio dovrebbero essere progettate in modo da ridurre al minimo le fluttuazioni della temperatura della granella immagazzinata. È infatti opportuno monitorare la temperatura e l'umidità delle strutture di stoccaggio e dei cereali immagazzinati a intervalli di tempo regolari. Un aumento della temperatura del grano di 2-3 °C può indicare una crescita

microbica e/o un'infestazione da insetti. Se la temperatura o l'umidità diventano notevolmente elevate, ove possibile, bisogna aerare il grano mediante circolazione di aria. L'aerazione dovrebbe essere condotta, durante i periodi di bassa umidità relativa ambientale, con aria che viene forzata attraverso la massa di grano immagazzinato. L'aerazione durante periodi di elevata umidità relativa può effettivamente aumentare la condensazione e l'aw nei cereali immagazzinati la cui temperatura è inferiore alla temperatura dell'aria ambiente. I cereali possono anche essere trasferiti da un contenitore di stoccaggio a un altro per favorire l'aerazione e l'interruzione di potenziali punti caldi durante lo stoccaggio.

Per i Paesi con clima freddo la riduzione della temperatura della granella inferiore a 15 °C, che può verificarsi durante i mesi più freddi nelle regioni produttrici di cereali, contribuisce allo stoccaggio sicuro e alla prevenzione della crescita di muffe e della produzione di micotossine. Temperature estremamente fredde inibiscono anche la crescita e la riproduzione degli insetti, riducendo il rischio di danni agli insetti, che possono facilitare la crescita della muffa. Anche l'utilizzo di gas inerti posti per saturazione nei silos inibisce lo sviluppo fungino e le infestazioni degli insetti e dei roditori. Durante l'insilamento si possono, inoltre, verificare processi spontanei di detossificazione: è stato infatti segnalato un graduale decremento nei livelli di alternariolo ed acido tenuazonico, ambedue prodotti da *Alternaria spp.*, in seguito ad insilamento di semi di girasole. Anche l'OTA presente nell'orzo si riduce sensibilmente durante l'insilamento di questo cereale. Inoltre, l'utilizzo di particolari batteri o agenti di fermentazione può determinare una detossificazione biologica di eventuali micotossine. Ad es. l'uso di lieviti determina una parziale degradazione della patulina durante l'insilamento della segale.

Notevole attenzione deve essere prestata anche alle fasi successive allo stoccaggio includendo un programma che eviti la contaminazione fungina durante le fasi di lavorazione e commercializzazione delle derrate alimentari.

È importante che i chicchi di cereali prelevati dal magazzino per il trasporto siano testati per le concentrazioni di micotossine prima di entrare negli impianti di lavorazione del grano, specialmente quando il rischio di contaminazione da micotossine è elevato a causa di condizioni sfavorevoli durante la produzione e la raccolta delle granaglie. I lotti contenenti livelli più elevati di micotossine devono essere sottoposti a una pulizia e un trattamento approfonditi che riducono significativamente le micotossine a livelli accettabili al fine di garantire un prodotto sicuro per i consumatori. Sfregare, setacciare e mondare per rimuovere gusci e strati di crusca della granella possono ridurre significativamente il contenuto di micotossine nelle frazioni macinate derivate dall'endosperma (cioè nella farina) poiché le parti esterne del chicco di cereali in genere contengono livelli di micotossine più elevati o polvere contaminata. Tale ridistribuzione nella granella non trasformata può comportare livelli non accettabili di micotossine in altre frazioni (ad esempio crusca) e prodotti che contengono tali frazioni. Dovrebbero essere seguite procedure di controllo appropriate quando si utilizzano le frazioni rimosse per uso alimentare o come mangime per animali.

I cereali contenenti micotossine in concentrazioni superiori ai livelli massimi stabiliti non possono essere messi in circolazione miscelati con prodotti conformi o utilizzati come ingredienti di derrate alimentari, ma possono essere sottoposti ad appropriati metodi di cernita o altri trattamenti fisici che permettano di abbassare il grado di contaminazione. Questo obbligo è valido solo per i cereali destinati al consumo umano quindi, per consentire un controllo efficace dei limiti fissati, è necessario conoscere la destinazione esatta dei prodotti e prevedere misure di detossificazione e decontaminazione delle granaglie e dei sottoprodotti in modo da limitare l'esposizione alle micotossine per via alimentare dell'uomo o degli animali.

Le strategie di controllo da applicare come precedentemente esposto sono diversificate a seconda che si tratti di industria alimentare o mangimistica. Infatti, è vietato l'utilizzo di trattamenti chimici per i cereali destinati all'uomo tal quali o come ingredienti di alimenti, mentre sono permessi metodi di cernita o altri trattamenti fisici che permettano di ridurre il grado di contaminazione. Nel caso di mangimi, la normativa attuale ha definito i LMR di aflatossine diversificati a seconda del tipo di mangime e della specie di destinazione. Quindi nei mangimifici si può cercare di mettere in atto procedure di decontaminazione tali da garantire nel prodotto una concentrazione finale di micotossine accettabile. Inoltre, sempre per i mangimi, molta attenzione deve essere posta ai sottoprodotti dell'industria che risultano i componenti più a rischio. Per tutti i trattamenti utilizzati è sempre opportuno verificarne l'efficacia, strettamente legata al tipo di micotossina e prevedere più di una misura di controllo da inserire nella filiera di produzione.

Affinché siano facilmente applicabili da qualunque industria, è necessario che tali procedure siano efficaci su uno spettro quanto più possibile ampio di micotossine, siano economiche, semplici ed applicabili anche nella realtà di piccole aziende senza apportare cambiamenti consistenti alle procedure operative, non alterino le caratteristiche organolettiche, nutrizionali e di palatabilità, non promuovano la sintesi di nuove tossine o sostanze xenobiotiche nel prodotto finito. Non esiste un unico metodo che risponda a tutte le esigenze sopra elencate per cui è necessario prevedere una serie di misure di controllo che rispondano meglio al tipo di cereale utilizzato, al tipo di prodotto finito (al tipo di lavorazione seguita) ed al tipo di azienda di lavorazione. Inoltre, l'efficacia delle procedure di detossificazione è condizionata dalle concentrazioni di micotossine presenti nei cereali, sarà pertanto necessario sempre verificare l'idoneità e la convenienza dei trattamenti eseguiti. Le procedure di detossificazione constatacono di metodi fisici, chimici e biologici.

4. Le micotossicosi nel lavoratore del settore agro-zootecnico

4.1. Effetti tossici derivanti dall'esposizione per via inalatoria a micromiceti e micotossine

Come già sottolineato, la principale via di esposizione alle micotossine e micromiceti è quella orale, attraverso l'introduzione di alimenti e mangimi contaminati. Tale esposizione ha raggiunto negli ultimi anni livelli di allerta tali da risultare significativamente predominante rispetto a quella derivante dai residui di altri inquinanti (fitofarmaci, additivi e coloranti, metalli pesanti, diossine, ecc) (Figura 4.1).

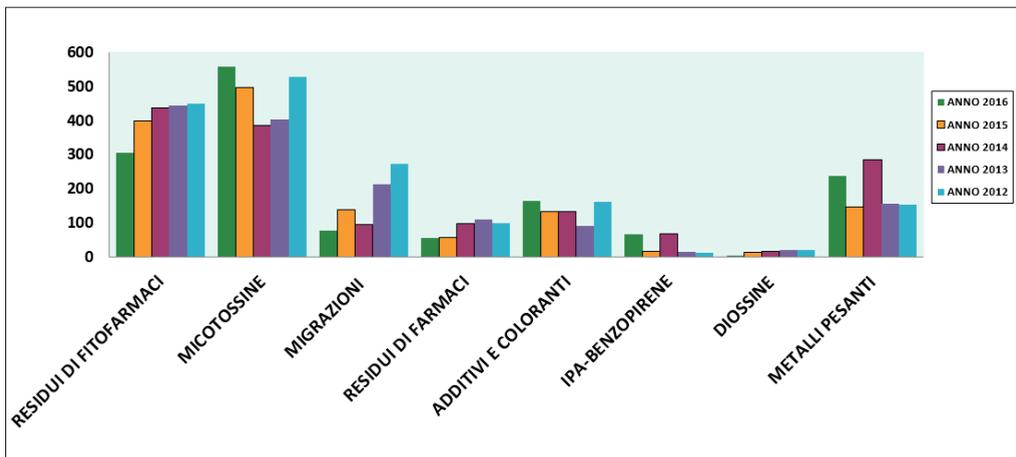


Figura 4.1 - Contaminanti chimici notificati in RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed)

Confronto anni 2012 - 2016; fonte: Ministero della Salute;

http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_dettaglioPNI_1410_allegati_allegati_itemName_0_allegato.pdf

Un aspetto spesso sottovalutato del problema micotossine è quello del rischio connesso all'esposizione per via inalatoria. Essa costituisce una modalità di introduzione secondaria delle micotossine che acquisisce importanza rilevante per alcune categorie di lavoratori (quelle del settore agro-zootecnico e tessile) frequentemente esposti a polveri potenzialmente contaminate. Le micotossine hanno però in genere pesi molecolari relativamente elevati e non sono significativamente volatili. Di conseguenza, di solito, non sono in movimento in aria a meno che non siano adese a una particella (materiale particolato di origine fungina, di

solito spore, o derivante dai substrati contaminati) o si sia verificato un evento di aerosolizzazione. La maggior parte delle particelle generate durante la manipolazione del grano sono comunque abbastanza piccole (in genere inferiori a 5 µm) per penetrare nelle vie aeree. Inizialmente si credeva che le micotossine fossero presenti esclusivamente nelle spore fungine, mentre di recente è stata osservata la loro presenza anche in elementi fungini più piccoli. Queste particelle (conidia, frammenti fungini, polvere e detriti non organici), con un diametro inferiore a 0.5µm possono penetrare più in profondità nei polmoni rispetto alle spore.

Esistono evidenze circa gli effetti nocivi per la salute umana in ambienti professionali in cui l'esposizione alle micotossine può essere intensa (in funzione del settore lavorativo e della presenza di fattori predisponenti la contaminazione) o in ambienti domestici danneggiati dall'acqua mentre il rischio è basso nelle abitazioni in buone condizioni e negli uffici. Nel primo caso, condizioni predisponenti sia ambientali che legate al substrato (umidità, temperatura, tenore di aw, ecc) o soggettive (stress, immunodepressione) possono sia aumentare la contaminazione che amplificare alcuni effetti tossici.

L'inalazione del materiale particolato può trasportare le micotossine fino agli alveoli polmonari. Una volta negli alveoli, oltre agli effetti diretti sull'apparato respiratorio e su altri distretti corporei, micotossine come le AF e i Tricoteceni possono interferire con la risposta immunitaria e modulare la funzione di rimozione da parte dei macrofagi delle particelle estranee alterando i meccanismi di difesa verso gli agenti patogeni (Jakab et al., 1994). Allo stato attuale, l'esposizione inalatoria dell'uomo alle micotossine, nei settori manifatturiero e dell'agricoltura, è ritenuta probabilmente corresponsabile di diverse manifestazioni patologiche, tra cui:

1. neoplasie (in operai del settore agricolo e della trasformazione degli alimenti prevalentemente per esposizione alle AF);
2. la sindrome da polveri organiche tossiche (OTDS), molto comune in agricoltori e in individui esposti per inalazione a polveri di cereali, fieno, funghi con presenza anche di batteri e loro metaboliti, insetti, acari, ecc.;
3. la polmonite interstiziale negli operai del settore tessile;
4. effetti irritativi da polveri di granaglie (Straumfors et al., 2015).

La letteratura riporta diversi casi di patologie respiratorie riscontrate nei lavoratori agricoli e non, correlabili ad una esposizione per via inalatoria a polveri derivanti da substrati vegetali contaminati da micromiceti e micotossine, spesso però tali correlazioni non sono state associate a riscontri analitici dell'agente eziologico nei campioni di aria o polvere. Le esposizioni sono comunque ordini di grandezza maggiori di quelle provocate da muffe proliferate in ambienti interni (Malmberg et al., 1993). L'esposizione cronica alla polvere di grano degli addetti ai cereali può verificarsi principalmente durante la manipolazione dei cereali ed è accompagnata da sintomi respiratori comunemente correlati alla bronchite cronica, al disturbo asmatico e al deficit delle funzioni polmonari (Dorribo et al., 2015; Edward et al., 2012). Casi clinici di malattie polmonari e cancro sono stati associati ad una espo-

sizione ad AF per inalazione (Sorenson et al., 1981), e studi epidemiologici suggeriscono più alte percentuali di riscontro in agricoltori impiegati nella lavorazione delle arachidi (Burg et al., 1981). La prima intossicazione per via inalatoria riportata nell'Europa dell'Est è stata quella da *Stachybotrys*, nel 1931 registrata come malattia emorragica fatale nei cavalli, ma i lavoratori delle aziende e quelli che maneggiavano paglia per lettiere e fieno o mangimi per animali contaminati riportavano gli stessi sintomi (Forgacs, 1972). La paglia ammuffita che conteneva *S. chartarum* ed altri funghi determinò la morte di molti cavalli ed altri animali e causò dermatiti, riniti sanguinolente, tosse, e forte irritazione della via respiratoria e della cute nei punti di contatto degli operai. Alcuni pazienti presentarono ipertermia e leucocitosi seguita da leucopenia; guarirono rapidamente dopo la cessazione dell'esposizione ma, ad una successiva esposizione, la malattia si ripresentò con conseguenze più serie. La micotossicosi occupazionale da *Stachybotrys* è stata registrata anche in lavoratori operanti in impianti per la produzione di olio di cotone, per il sollevamento di cereali, per la decontaminazione di cereali ammuffiti, produzione di malto, impianti tessili e di cordami adoperanti fibre di piante (Ciegler and Bennett 1980). Nel 1987, Brinton riportò un'epidemia isolata di malattia febbrile dopo una festa in un college universitario (Brinton et al., 1987). Paglia ammuffita era stata accumulata sul pavimento di una stanza chiusa dove si era tenuta la festa. Cinquantacinque dei 67 partecipanti alla festa manifestarono febbre, brividi, tosse, affanno e dolori al torace e alla schiena. Il rischio di manifestare i sintomi aumentava con l'aumentare del tempo trascorso alla festa, tutti i partecipanti guarirono completamente dopo allontanamento dall'ambiente contaminato. Test sierologici non evidenziarono cause allergiche o virali ed i sintomi erano riconducibili alla OTDS. Di Paolo (1994) evidenziò la presenza di Ocratossine nel grano contaminato da *Aspergillus ochraceus* sospettate di causare, oltre a problemi renali e intestinali, sintomi respiratori acuti in una coppia di agricoltori che avevano trascorso continuamente otto ore a setacciare la granella. Il grano era visibilmente ammuffito e coperto di polvere descritta come acida ed irritante. Gli animali da laboratorio esposti alla granella contaminata morirono o mostrarono gravi alterazioni d'organo tuttavia non furono determinate le concentrazioni delle micotossine sulla matrice e nell'aria.

Altri ricercatori osservarono l'insorgenza di una malattia acuta febbrile (micotossicosi polmonare), con sintomi quali brividi, febbre, tosse secca con infiammazione delle mucose delle vie aeree, dispnea e successivamente infiltrazioni e malattia interstiziale polmonare (con un processo acuto multi-focale nei bronchioli terminali, alveoli e cellule interstiziali), in allevatori che avevano maneggiato fieno ammuffito e insilato di mais contaminato da diverse specie fungine durante le operazioni di pulizia dei silos (Emanuel et al., 1975, 1986). Cinque specie di muffe (tra cui specie appartenenti al genere *Fusarium* e *Penicillium*) furono identificate nelle biopsie polmonari da 4 a 6 ore dopo l'esposizione in assenza di forme batteriche ma non furono eseguite analisi per la ricerca di micotossine. Gli autori ipotizzarono che micotossine ed endotossine batteriche fossero i principali agenti causali.

L'esposizione a micotossine (in particolare l'AFB1) è stata anche associata alla insorgenza della malattia polmonare interstiziale (ILD) caratterizzata da polmonite interstiziale desquamativa e danno alveolare diffuso. Tale patologia, che è stata osservata regredire con l'allontanamento del lavoratore o la decontaminazione fungina, è stata anche associata ad un'esposizione cronica a polveri biologiche ad attività pro-infiammatoria (Ghio and Roggli, 1995). Più recentemente, Melbostad and Edward (2001) hanno condotto uno studio negli agricoltori e hanno osservato che, durante lo svolgimento di specifiche mansioni, i livelli medi di esposizione a polvere organica totale, spore fungine e endotossine erano positivamente correlati ai sintomi respiratori e oculari. Alcuni studi epidemiologici condotti in ambito occupazionale e non (Creasia et al. 1987, 1990) indicano che le micotossine sono più tossiche quando l'esposizione avviene per inalazione piuttosto che per ingestione.

Bisogna considerare che i lavoratori delle granaglie sono potenzialmente esposti alle micotossine anche attraverso depositi diretti sulla pelle (Boonen et al., 2012) e per ingestione, oltre che attraverso l'assunzione di cibo, quando la respirazione avviene per bocca (Pinton et al., 2012). Per definire un modello di questa complessa modalità di esposizione dovrebbe essere presa in considerazione la biodisponibilità delle micotossine in seguito ad introduzione attraverso diversi tessuti, ma tali dati non sono disponibili.

La concentrazione delle micotossine nell'aria ritenuta non pericolosa per l'uomo (CoNTC, Concentration of No Toxicologic Concern) è di 30 ng m⁻³ (Hardin et al., 2009). I risultati riportati in letteratura evidenziano livelli di esposizione alle micotossine, durante la raccolta e lo scarico del grano, solitamente inferiori al CoNTC ma la dose cumulativa può superare 20 ng m⁻³ per gli operatori che lavorano al terminale del grano. Se da un lato questi dati sembrano confortanti dall'altro non può essere sottovalutata la frequente esposizione a più micotossine (frequentemente a DON, NIV, ZEN e AFB1) che potrebbe essere motivo di preoccupazione. Miscele di micotossine hanno infatti un effetto sinergico sulle cellule epiteliali, influenzando la vitalità cellulare e la produzione di citochine.

Il polmone è uno degli organi target dell'AFB1 (Kelly et al., 1997; Donnelly et al., 1996) ma i dati epidemiologici riguardanti il ruolo della micotossina quale cancerogeno polmonare per l'uomo sono contraddittori. Sono stati considerati lavoratori esposti a livelli potenzialmente alti di polveri contenenti AFB1 in prodotti agricoli. Due studi su operai di un impianto per la lavorazione di arachidi e semi di lino mostravano incidenze maggiori di tumori respiratori in confronto ad un gruppo di soggetti non esposti (Hayes et al., 1984). Non è stata osservata analogha correlazione in lavoratori di un impianto di produzione di mangime per bestiame contaminato ma i lavoratori mostravano un incremento del rischio di cancro biliare e del fegato (Olsen et al., 1988). Come riportato all'inizio di questo paragrafo, i lavoratori agricoli e zootecnici sono esposti alle micotossine e relativi funghi produttori oltre che per inalazione di polvere di cereali durante il lavoro (coltivazione del grano, essiccazione, alimentazione animale, maneggiamento della lettiera), anche attraverso il consumo di una dieta contaminata. Oltre ad AF, Ocratossine e Tricoteceni,

gli Zearalenoli prodotte da muffe che infestano i cereali sul campo (tutte micotossine ad elevata azione immunosoppressiva) e fitoestrogeni come la genisteina, presenti in alimenti a base di soia, possono avere una elevata potenza estrogenica. In Norvegia è stato condotto negli anni 1969-1989 uno studio epidemiologico sugli esiti per la salute di un contatto per cause occupazionali con colture di grano prodotte in condizioni climatiche umide e temperate, (indicando una possibile esposizione a micotossine) con insorgenza di alcuni tumori e esiti negativi sulla riproduzione noti per essere ormone-dipendenti (Nordby and Kristensen, 2006). Lo studio ipotizza che l'inalazione di micotossine aerodisperse possano essere associate con problemi di salute di natura endocrina e immunitaria nelle famiglie di agricoltori. Sono state osservate associazioni di aborti e tumori tardivi del corpo uterino e dell'ovaio (con maggiore frequenza nelle gravide) nonché di ipospadia e criptorchidismo. Quindi, anche se gli effetti osservati non sono sulla funzione respiratoria, non può essere trascurata l'eventualità che, l'immunosoppressione indotta possa, in condizioni di co-contaminazione fungina, indurre un potenziamento dell'azione di altre micotossine con azione sulla funzione respiratoria aggravando la manifestazione degli effetti.

Oltre agli agricoltori anche gli operai che lavorano nell'industria alimentare potrebbero essere a rischio se gli standard igienici sono bassi. Nelle segherie, la legna umida contaminata con *A. fumigatus* e altri funghi, conservata in maniera non idonea, può costituire un rischio e già negli anni 80' fu osservata la presenza di micotossine tremorgeniche capaci di indurre la "wood trimmer disease" in parte almeno indotta dalle micotossine. Allo stesso modo sono a rischio gli operai che lavorano nella ristrutturazione degli edifici danneggiati dall'acqua e nell'industria tessile e mangimistica. Un'altra importante ed emergente fonte di micotossine è quella dei biofuels o biocarburanti, l'energia del futuro. Il biofuel è ogni tipo di materiale organico potenzialmente capace di generare energia su base rinnovabile inclusi vegetali, residui agricoli e forestali, rifiuti animali, legno commerciale, la frazione organica di rifiuti municipali domestici. Coloro che operano a contatto con il materiale organico dei rifiuti sono potenzialmente esposti per via respiratoria a funghi e a micotossine nell'aria (*Aspergillus* e *Penicillium* nel grano e *Trichoderma* nel legno) ma mancano dati a riguardo.

Va sottolineato che, come già accennato, la maggiore mole di studi epidemiologici effettuati per indagare sulla presenza e tossicità per inalazione di muffe e micotossine ha avuto come target piuttosto che gli ambienti agro-zootecnici, le WDB (Water Damaged Buildings, edifici danneggiati dall'acqua) per contaminazione da *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* e *Stachybotrys chartarum*, soprattutto presenti su pareti di cartongesso, polvere, legno (Figura 4.2).



Figura 4.2 - Edificio danneggiato dall'acqua e contaminato da micromiceti (WDB);
fonte: <https://www.nbcnews.com/health/health-news/sick-building-fungi-release-toxin-directly-air-study-finds-n776126>

In questi studi è stata evidenziata la presenza nell'aria e nella polvere di una miscela di contaminanti di origine diversa che insieme possono portare alla varietà dei sintomi osservati. Ad es. l'LPS (lipopolisaccaride), componente della parete cellulare dei batteri gram-negativi, è una endotossina che causa una risposta infiammatoria attraverso il rilascio di citochine, determinando, in sinergia con le micotossine, un aggravamento di una patologia polmonare esistente (ad es. asmatica). Analogamente agiscono i VOC (Composti Organici Volatili microbici) che sono metaboliti secondari di origine microbica che conferiscono agli scantinati il classico odore di muffa e attivano risposte immunitarie nei soggetti predisposti. Metaboliti secondari di muffe e batteri sono stati identificati nella polvere di moquette, carta da parati, impianti di riscaldamento, ventilazione e climatizzazione e nel particolato respirabile dell'aria (Täubel et al., 2011).

L'esposizione a micotossine è stata, tra l'altro, anche correlata alla sindrome da fatica cronica (CFS), chiamata anche encefalite mialgica, ampiamente studiata negli ultimi 25 anni e associata, tra l'altro, a infezioni (virali), stress ossidativo, aberrazioni immunitarie e esposizioni tossiche. È infatti interessante notare che i pazienti esposti alle micotossine nelle WDB presentano spesso manifestazioni cliniche simili a quelle da CFS. L'impiego di test ELISA ha consentito di evidenziare nelle urine di pazienti affetti da CFS (esposti nel 90% dei casi a WDB) la presenza di OTA, Tricoteceni, e AFB1.

Gli studi sperimentali sulla tossicità indotta dalle micotossine per via inalatoria hanno fornito risultati contraddittori, con alcuni autori che riportano evidenze di una maggiore tossicità in confronto ad altre vie di esposizione (Creasia et al., 1987, 1990), ed altri che riportano risultati opposti (Marrs et al., 1986, Pang et al., 1988).

Studi condotti "in vivo" indicano che le AF inalate sono cancerogene e immunodepressive (Jakab et al., 1994). L'esposizione sperimentale di topi e ratti alla AFB1 per instillazione endotracheale o per inalazione di aerosol comporta, infatti, una soppressione della funzione immunitaria, dei macrofagi alveolari e del rilascio di TNF- α con alterazione dell'immunità innata e acquisita.

L'inalazione in acuto (120 min) a AFB1 purificata determina la formazione di addotti di DNA nel fegato di ratto (Zarba et al., 1992) mentre l'esposizione cronica (giornaliera per un anno) di topi ad AFB1 aerosolizzata induce un incremento del 38% dell'incidenza di leucemia linfatica (Louria et al., 1974).

Per quanto concerne i Tricoteceni i sintomi dell'avvelenamento in condizioni naturali (irritazione della pelle, vomito, anoressia, diarrea, emorragia e convulsioni ecc.) non sono associabili a problemi respiratori. Creasia e collaboratori (1987, 1990) hanno riportato, tuttavia, che la T2 nel topo induce una forte tossicità per via inalatoria e che questa è 10-20 volte superiore alla tossicità per via orale mentre Marss e coautori (1986) hanno evidenziato una minore tossicità acuta per aerosol rispetto alla somministrazione sottocutanea nel porcellino d'india. Tali divergenze potrebbero essere imputabili ai diversi tempi di esposizione adottati a parità di dose. Le esposizioni non risultavano in edemi polmonari o gravi alterazioni istopatologiche nei polmoni che invece erano riscontrabili in altri organi. La spiegazione sarebbe correlata al fatto che la micotossina associata al veicolo è rapidamente assorbita dal polmone e trasportata in altri organi (Pang et al., 1988).

L'instillazione intranasale di alte concentrazioni di spore di *Stachybotrys* nel topo comporta un grave danno polmonare (Figura 4.3) e morte (Nikulin et al., 1996). Concentrazioni basse di spore determinano una risposta infiammatoria e citotossica nel polmone (Flemming et al., 2004).

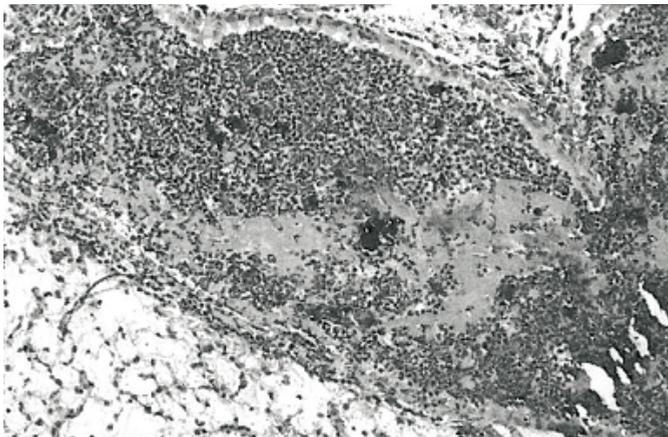


Figura 4.3 - Modifiche istologiche in tessuto polmonare di topo esposto ad alte dosi di *S. chartarum*. Sono visibili alterazioni infiammatorie e la presenza di essudato emorragico; microscopia ottica, colorazione ematossilina eosina, x40 (Nikulin et al., 1996)

Per quanto concerne i funghi del genere *Alternaria*, questi sono un esempio di come una singola specie fungina possa produrre numerosi metaboliti secondari (circa 125) (D'Mello, 1997). Sebbene tali micromiceti abbiano un ruolo nelle malattie allergiche, non è noto se l'esposizione umana alle micotossine sintetizzate abbia un ruolo significativo nell'insorgenza di patologie respiratorie e di altra natura. Questo dubbio vale anche per altre muffe e micotossine, perché gli studi sulle relazioni tra esposizione, anche per inalazione, ed effetti sulla salute sono pochi. Anche la sterigmatocistina (prodotta da funghi del genere *Aspergillus*) è citotossica a basse concentrazioni per le cellule di polmone umano (IC50 -concentrazione inibitoria 50- 0.9-2.3 $\mu\text{g ml}^{-1}$) e le cellule macrofagiche (IC50 0.3-0.6 $\mu\text{g ml}^{-1}$) costituendo un potenziale rischio per l'uomo che vi è esposto cronicamente (Despot et al., 2016).

I risultati degli studi sperimentali, tuttavia, sono solo parzialmente utili per comprendere gli aspetti tossicodinamici e tossicocinetici derivanti dall'esposizione a micotossine e spore fungine in condizioni naturali. Diversamente da un aerosol di singola micotossina pura, quello di spore di muffa è un complesso di diverse sostanze chimiche che possono agire con effetto sinergico o inibitore nel produrre danni tessutali. Inoltre, le proprietà aerodinamiche delle spore fungine possono essere diverse da quelle di un aerosol di micotossine generato artificialmente. Quest'ultimo produrrà molto probabilmente dei diversi schemi di deposizione nell'albero respiratorio che influenzeranno la quantità, la localizzazione della sostanza dose trasportata e la derivante tossicità (Schlesinger, 1985).

Nell'intento di realizzare un modello migliore per studiare gli effetti delle micotossine per inalazione di spore, Nikulin (1996) ha iniettato spore fungine nel naso di topi osservando variazioni di risposta in funzione dei tempi di esposizione e del tipo di spore somministrate con modificazioni nella funzione e nella morfologia polmonare. Questi risultati hanno confermato l'importanza della modalità di introduzione e del veicolo delle micotossine negli studi sull'esposizione per inalazione. La significatività e l'applicabilità dei risultati rispetto ad un'inalazione naturale è limitata a causa del basso numero di animali usati, l'alta e improbabile quantità di spore somministrate, la valutazione soggettiva della risposta istologica, la tecnica di esposizione non fisiologica (iniezione), e il metodo di quantificazione delle spore.

Malgrado vi sia evidenza di una relazione tra alti livelli di esposizione per inalazione o contatto diretto con micotossine o muffe contenenti micotossine, ed effetti tossici negli animali e negli uomini, la letteratura corrente non consente di giungere a conclusioni inconfutabili. Inoltre, al momento, per quanto di nostra conoscenza, non esistono condivisi e uniformati standard di esposizione per le muffe o micotossine in ambienti interni, tanto più per gli ambienti esterni lavorativi. La mancanza di tali standard non consente di prevedere quale livello di contaminazione eventualmente osservato può essere responsabile di effetti dannosi. Inoltre, non esistono uniche e riconosciute modalità di campionamento e di analisi delle polveri la qual cosa rende più difficile lo studio di correlazione tra esposizione ed effetti osservati e la comparazione tra i dati della letteratura.

4.2 Esposizione alle micotossine e ai micromiceti del lavoratore nel settore agro-zootecnico

La polvere di grano è una miscela complessa di varie componenti tra cui particelle fungine, batteri, frammenti di insetto, rifiuti animali, composti inorganici e sostanze chimiche. Mentre l'esposizione ad alcune di queste componenti nella polvere di grano è stata recentemente riportata (Straumfors et al., 2015), l'esposizione alle micotossine è stata poco esplorata. Diversi lavori indicano, tuttavia, la presenza di vari generi e specie fungine in campioni di polvere d'aria provenienti da molteplici aree del pianeta (*Aspergillus niger, flavus, ochraceus, Penicillium chrysogenum, Fusarium oxysporum, Cladosporium, Stachybotrys chartarum* ecc.) con, in genere, la prevalenza dei generi *Aspergillus, Penicillium* e *Fusarium* soprattutto nella polvere di grano dei montacarichi. Le analisi per la ricerca quali-quantitativa delle micotossine e per evidenziarne la tossicità hanno dimostrato, nei pochi lavori presenti in letteratura, la predominante presenza di AF, Tricoteceni e ZEA (Niculita-Hirzel et al., 2016; Abdel-Hafez et al., 1986). È stato segnalato un aumento della frequenza di micotossine del genere *Fusarium* nel grano tenero negli ultimi 20 anni che espone ad un maggiore rischio i lavoratori (Tralamazza et al., 2016). Questo trend è stato collegato alle piogge più frequenti durante il periodo di fioritura del grano (Krysinska-Traczyk et al., 2007). La costante co-presenza di due o più micotossine (in particolare DON e ZEA) nella maggior parte dei campioni contaminati aumenta ulteriormente il rischio di una esposizione cronica per i lavoratori del grano (Bryla et al., 2016).

Come dicevamo, è ben monitorata l'esposizione alle micotossine attraverso l'introduzione di alimenti contaminati ma, pur considerando questi xenobiotici potenzialmente tossici se inalati, i dati sull'esposizione occupazionale nei lavoratori agricoli sono esigui. Inoltre, spesso i risultati prodotti non sono facilmente correlabili perché ottenuti con metodiche di campionamento ed analisi diverse che non consentono un'agevole analisi comparativa dei dati. Bronchiti croniche, asma, difficoltà respiratorie, sindrome da polveri organiche tossiche, come abbiamo già visto sono state riscontrate negli agricoltori con una gravità delle alterazioni che dipende dalla concentrazione e dalla frequenza dell'esposizione al contaminante oltre che dalla suscettibilità individuale. Negli anni queste valutazioni hanno rafforzato la necessità di monitorare l'esposizione dei lavoratori nel settore agro-zootecnico ad agenti che inducono disordini respiratori e a definire validi programmi di prevenzione.

Alcuni ricercatori hanno evidenziato una maggiore presenza di micotossine nelle polveri di cereali piuttosto che nei cereali stessi con la contaminazione di oltre il 90% in media dei campioni di polvere esaminati (Krysińska-Traczyk et al., 2007). Una significativa correlazione è stata anche trovata tra il riscontro di micromiceti del genere *Fusarium* e la concentrazione dei relativi metaboliti secondari prodotti confermando l'esistenza di un considerevole rischio occupazionale per gli agricoltori impegnati nelle operazioni di lavorazione del grano ed esposti, per inalazione, alle micotossine (Krysińska-Traczyk et al., 2003). È stato osservato che, in alcuni casi, anche quando si utilizza la varietà di grano a minore suscettibilità e i trattamenti meccanici intensivi

di pacciamatura del mais, le contaminazioni da DON sono riscontrate a livelli superiori al limite massimo consentito di 1.25 mg kg^{-1} per i cereali non trasformati fissato nel 2006 dalla CE (Raccomandazione del Regolamento della Commissione Europea, 2007) nei cereali non trasformati (Vogelgsang et al., 2011).

Niculita-Hirzel e collaboratori (2016) hanno determinato la presenza di DON, NIV e ZEA in alcune specie di grano invernale coltivato in Svizzera con diversi sistemi di produzione (che prevedono o meno l'utilizzo di fungicidi). Mentre la specie di cereale non influenza la concentrazione delle micotossine, l'attività produttiva ne varia molto la presenza nell'aerosol. Le differenze nel rischio di esposizione alle micotossine correlato al tipo di attività sono state analizzate confrontando l'incidenza di riscontro e il livello delle micotossine negli aerosol raccolti durante la trebbiatura e lo scarico del grano. La frequenza dei campioni contaminati da almeno una micotossina è risultata più elevata durante la trebbiatura (93%) rispetto allo scarico di cereali (85%). In particolare, lo ZEA è stato rilevato più frequentemente negli aerosol raccolti durante la trebbiatura mentre nessuna differenza tra le due attività è stata notata per DON, 3-ADON, 15-ADON e NIV. Inoltre, il rischio di esposizione alle tre micotossine DON, NIV e ZEA era molto più elevato durante la raccolta (72%) rispetto allo scarico di cereali (51%) così come le concentrazioni delle micotossine negli aerosol. L'attività lavorativa più rischiosa individuata per gli operai è stata quella della pulitura del grano ($65, 59$ e 3 ng m^{-3} rispettivamente di DON, NIV e ZEA nell'aerosol), seguita da quella dello scarico del cereale e quella infine del raccolto. L'utilizzo della cabina durante le operazioni di scarico è una efficiente misura protettiva ma non sufficiente a evitare una esposizione cronica alle diverse micotossine. Non solo i raccoglitori, ma anche gli operatori dei terminali del grano lavoravano in ambienti contaminati da DON, NIV e ZEA. Mentre i raccoglitori sono, anche se di poco, più frequentemente esposti rispetto agli operatori dei terminali, gli aerosol generati durante la trebbiatura contengono, in media, livelli più bassi di DON, NIV e ZEA rispetto a quelli generati durante lo scarico del grano (Figura 4.4).



Figura 4.4 - Scarico dalla mietitrebbia al rimorchio; fonte: <http://www.agrarservice-repenning-specht.de/index.php?do=Getreideernte>

Una possibile spiegazione è che la polvere generata durante la trebbiatura è rappresentativa dell'intera pianta, mentre la polvere generata durante lo scarico proviene dalla granella stessa sulla quale si sviluppa preferenzialmente il *Fusarium*. Ne risulta in ultima analisi che i livelli di DON, NIV e ZEA generati durante la lavorazione del grano sono frequenti contaminanti dell'aerosol costituendo un rischio costante di esposizione dei lavoratori durante il periodo di raccolta del grano. Nordby e collaboratori (2004) hanno evidenziato in Norvegia concentrazioni di Tricoteceni nella polvere di grano di <20, 54, and <50 mg kg⁻¹ (range <20-340, <30-2400, and <50-1200) rispettivamente per DON, HT-2 e T-2. Gli autori hanno calcolato i livelli di esposizione alle micotossine con la polvere inalabile presupponendo che le concentrazioni nella polvere inalabile fossero sovrapponibili a quelle nella polvere depositata.

Le misure di protezione collettiva (ad esempio, l'impiego di cabine ventilate) sono efficienti presidi cautelativi poiché riducono i livelli di esposizione di 10-20 volte, in funzione delle attività e delle micotossine considerate. Tuttavia, la maggior parte degli operatori è spesso in contatto diretto con la polvere di grano: i raccoglitori durante il controllo della qualità della trebbiatura o la pulizia dei macchinari e gli operatori del terminale del grano quando prelevano il grano per l'analisi. Pur incoraggiando insistentemente l'uso di dispositivi di protezione individuale durante questi processi, nella pratica, questo consiglio è raramente seguito anche durante la procedura di pulizia, l'attività con il più alto potenziale livello di esposizione. Spesso la spiegazione di tale comportamento, soprattutto nelle fasi di lavorazione sul campo, è da ricercarsi nella comprensibile riluttanza degli operatori a indossare l'equipaggiamento protettivo personale durante il periodo più caldo e più stressante dell'anno.

Anche le operazioni di pulizia dei silos e l'alimentazione degli animali espongono gli agricoltori a concentrazioni pericolose di micotossine quali l'AFB1 soprattutto in ambienti chiusi (Selim et al., 1998). In India sono stati allo stesso modo evidenziati livelli più alti di AFB1 nella polvere respirabile (particelle di dimensioni inferiori a 7 micron) rispetto alla polvere totale di impianti di lavorazione del riso e del granturco con livelli maggiori nei campioni di polvere dei frangitori (816 pg m⁻³) e a seguire nelle aree di caricamento e scaricamento (800 pg m⁻³) e negli elevatori degli impianti di trasformazione del mais (18 pg m⁻³) (Ghosh et al., 1997). I lavori esaminati riportano livelli di contaminazione anche molto diversi che dipendono dall'area geografica considerata con le relative condizioni climatiche, e dalla fase del ciclo produttivo associata alla metodologia di lavorazione oltre che dal substrato analizzato.

Inoltre, alti livelli di polvere nell'aria non necessariamente corrispondono a livelli elevati di micotossine e viceversa confermando l'esistenza di una distribuzione non omogenea di questi contaminanti. Per quanto concerne il livello di esposizione dei lavoratori, secondo diversi ricercatori ipotizzando un'inalazione di livelli medi di concentrazione delle micotossine con alta biodisponibilità e di livelli massimi (quindi nel caso peggiore), non vengono mai superati i rispettivi valori di TDI (Tolerable Daily Intake, Dose Giornaliera Tollerabile) raccomandati nel caso di una introduzione per via orale. La Tabella 4.1 riporta i livelli di micotossine rilevati da alcuni autori nella polvere delle lavorazioni cerealicole durante alcune procedure operative.

Tabella 4.1 - Riscontro di micotossine nelle polveri prodotte durante alcune attività agricole e zootecniche

Attività	Micotossina	Concentrazione rilevata	Riferimento bibliografico
Raccolta e scarico del grano	AFB1	0.04-92 ng m ^{-3*}	Selim et al., 1998
Area di lavoro del mulino di riso; Area di stoccaggio; Elevatori; Carico/scarico; Frangitoio	AF	26 pg m ^{-3*} ; 12 pg m ^{-3§} 19 pg m ^{-3*} ; 11 pg m ^{-3§} 18 pg m ^{-3*} 800 pg m ^{-3*} 816 pg m ^{-3*}	Gosh et al., 1997
Scarico del mais	AF	fino a 1840 ng m ^{-3*}	Burg and Shotwell, 1984
Impianto di estrazione di arachidi e semi di lino	AFB1	0.6-72 ng m ^{-3*}	Hayes et al., 1984
Raccolta del grano;	DON NIV ZEA	28 ng m ^{-3*} 20 ng m ^{-3*} 1 ng m ^{-3*}	Niculita-Hirzel et al., 2016
Scarico del grano;	DON NIV ZEA	53 ng m ^{-3*} 46 ng m ^{-3*} 4 ng m ^{-3*}	
Pulizia	DON NIV ZEA	65 ng m ^{-3*} 59 ng m ^{-3*} 3 ng m ^{-3*}	
Scarico dei cereali	AFB1	130 ppb*	Sorenson et al., 1981
Manipolazione, scarico e sgusciatura arachidi	AFB1	22.7-730.8 ppb* 0.4-7.6 ng m ^{-3*}	Sorenson et al., 1984
Manipolazione del grano (elevatori);	ZEA OTA AFB1	50 ppb§ 10 ppb§ 5 ppb§	Palmgren et al., 1983
Polvere depositata su pavimento, sporgenze, macchine	ZEA	25-100 ppb§	
Manipolazione del grano (polvere depositata da elevatori del grano)	OTA DON ZEA	0.002 ng m ^{-3*} ; 0.4 ng m ⁻³⁰ 2 ng m ^{-3*} ; 416 ng m ⁻³⁰ 1 ng m ^{-3*} ; 126 ng m ⁻³⁰	Mayer et al., 2007
Ambiente allevamento avicolo	AFG2 AFB1 ZEA OTA	0.189 ng m ^{-3*} 0.080 ng m ^{-3*} 2.363 ng m ^{-3*} 8530 ng m ^{-3*}	Wang et al., 2008

Tabella 4.1 (segue)

Attività	Micotossina	Concentrazione rilevata	Riferimento bibliografico
Ambiente allevamento avicolo	AF Ocratossine Fumonisine	21.32 ppb 11.26 ppb 4.10 ppb	Okiki et al., 2011
In ambienti chiusi per l'alimentazione degli animali;	AFB1	5-421 ng m ⁻³ * fino a 5100 ng m ⁻³ °	Selim et al., 1998
Pulizia dei secchi del mangime		124-4849 ng m ⁻³ *	

5. Misure di prevenzione per limitare l'esposizione dei lavoratori del settore agro-zootecnico alle micotossine e ai micromiceti

Come già sottolineato, il controllo della diffusione delle micotossine non è di facile attuazione sia per la natura della contaminazione, di origine accidentale, che per la molteplicità degli agenti contaminanti, che per la notevole influenza delle condizioni meteo-climatiche su scala ambientale e del substrato di crescita fungina. Tuttavia, le misure di controllo devono, nelle linee generali, seguire il principio ALARA (As Low As Reasonably Achievable) che si applica a sostanze particolarmente dannose per la salute la cui presenza nell'ambiente non è strettamente dipendente dalla volontà umana e per le quali devono essere fissati livelli di tolleranza che corrispondono ai valori più bassi ragionevolmente misurabili. Il principio implica la necessità di impegnarsi nell'individuazione e nell'applicazione di misure di contenimento della diffusione di sostanze cancerogene e genotossiche finalizzate ad una riduzione della contaminazione. Questo approccio al problema consente di ridurre il rischio tossicologico attraverso la limitazione sia della contaminazione da micromiceti e micotossine di derrate che sono destinate al consumo alimentare umano (oltre che animale), che dell'esposizione per via inalatoria per cause occupazionali. Nel caso specifico dei lavoratori del settore agro-zootecnico, negli ultimi anni alcuni enti europei ed extraeuropei hanno proposto valori di tolleranza, riguardanti l'esposizione alle micotossine per via inalatoria o cutanea, che sono stati adottati dai rispettivi Paesi (Olanda, Svizzera, Inghilterra, Francia, Stati Uniti). Tali valori variano da 1.5 a 4, 5 e 10 mg m³ per le polveri di cereali (principalmente grano, orzo, avena, riso, granturco, segale). A tutt'oggi non è stato fissato in Italia alcun valore limite.

Risulta di fondamentale importanza la valutazione di tutti gli aspetti di prevenzione con un'iniziale analisi del rischio e l'identificazione dei punti critici nei processi di produzione in campo, stoccaggio e trasformazione dei substrati potenzialmente contaminati. Ne deriva la necessaria individuazione, e conseguente adozione, delle possibili misure finalizzate da un lato a contenere la contaminazione dei substrati alimentari e degli ambienti di lavoro (ottimizzazione delle tecnologie di lavorazione, applicazione delle GAP e GMP), dall'altro a ridurre, a livelli di sicurezza, l'esposizione umana alle micotossine attraverso un'informazione capillare e l'impiego di dispositivi di protezione individuale (DPI).

5.1 Attività che generano polveri

Diversi sono i settori agro-zootecnici che possono essere interessati al "problema

micotossine” ma quello principalmente coinvolto è il settore granario come testimoniato dalla letteratura prodotta sull’argomento.

Le principali attività che generano polveri durante la lavorazione delle granaglie sono:

- versamento;
- movimentazione della granella in azienda (selezione della granella grezza, passaggio negli essiccatori, soffiatura e trasferimento, svuotamento degli essiccatori e dei silos) (Figura 5.1);



Figura 5.1 - Movimentazione delle granaglie nel magazzino; (HSE, 2010)

- Molitura di grano e orzo alimentare;
- Riempimento dei maceratori in cui si produce malto d’orzo;
- Operazioni di pulizia (pulizia e manutenzione degli impianti di produzione con estrazione della polvere, dei silos vuoti, sotto i forni del malto d’orzo, pulizia dei secchi del mangime per uso zootecnico);
- Aggiunta di ingredienti supplementari alle tramogge durante la molitura della farina.

Gli agricoltori identificano l’ingresso della granella raccolta, la movimentazione della granella in azienda e negli essiccatori (soffiatura e trasferimento), lo svuotamento degli essiccatori e dei silos e le operazioni di pulizia come attività che rilasciano particolari quantitativi di polvere nell’aria. Le operazioni di pulizia della polvere di granaglie da impianti e sedi sono rimaste prevalentemente manuali, con una riduzione dell’uso dei getti di aria compressa per soffiare la polvere facendola

risospendere da superfici alte o inaccessibili o l'uso della spazzolatura e un incremento nell'uso dei sistemi di aspirazione. La polvere è osservata comunque, in generale, nell'ambiente di lavoro di mulini, maltifici e mulini per alimentazione animale (polvere depositata e accumulata su superfici quali macchine e nastri trasportatori, ringhiere, oltre a polvere direttamente visibile nell'aria in idonee condizioni di luce naturale) (Figure 5.2,5,3, 5.4).



Figura 5.2 - Polvere depositata su un motorino; (HSE, 2010)



Figura 5.3 - Scaletta impolverata nella sala del frangitore; (HSE, 2010)



Figura 5.4 - Polvere depositata su tubi rigidi e flessibili (HSE, 2010)

Da considerare che le condizioni meteorologiche possono influenzare oltre al livello di contaminazione del substrato (piogge, temperature caldo-umide) anche il livello di polvere di granaglie nell'aria (per azione e forza del vento), soprattutto in luoghi all'aperto, durante la movimentazione delle granaglie ad es. su una banchina, dalle benne delle gru, ecc. Il livello di polverosità della granella durante la crescita del vegetale e il raccolto può anch'esso essere influenzato dalle condizioni climatiche aumentando soprattutto quando, immediatamente prima del raccolto, il clima è umido. Condizioni meteorologiche quali umidità e clima temperato sono state identificate come condizioni predisponenti fondamentali nel determinare la presenza di tricoteceni nella polvere di grano depositata, al contrario non è stata riscontrata una influenza significativa della specie di cereale, delle modalità di produzione e della regione (Nordby et al., 2004).

Anche la tipologia di materia prima lavorata può causare diversi livelli di polvere. Le attività di manipolazione e trasferimento dell'orzo sono infatti notoriamente molto più polverose rispetto a quelle del grano.

La presenza di funghi del genere *Alternaria* e *Cladosporium* e in misura minore del *Fusarium* è stata associata alla granella appena raccolta. La composizione dei fun-

ghi cambiava quando la granella era posta nel magazzino di stoccaggio con prevalenza dei generi *Aspergillus* e *Penicillium* e un incremento dei livelli di contaminazione direttamente correlato al tempo di conservazione. La concentrazione dei funghi aumentava durante le attività di essiccazione e stoccaggio dopo la raccolta mentre quelle di endotossine e di OTA erano invariate. Questo andamento era legato alle lesioni provocate alle granaglie durante le operazioni di trasferimento e riscaldamento, che le rendono più suscettibili alle infezioni fungine. Quando la granella raccolta era sottoposta a essiccazione e inviata allo stoccaggio, le concentrazioni di DON aumentavano ma quelle di HT-2 diminuivano nella polvere di granaglie. Nella tabella 5.1 sono riportate le principali attività che nell'industria granaria possono determinare la formazione di polvere inalabile, e alcune misure di concentrazione di endotossine, micotossine, funghi e batteri per alcuni Paesi estrapolate dalla letteratura. Non è facile fare una classificazione affidabile utilizzando tali misure per la diversità delle modalità di misurazione dei livelli e perché il dato presentato spesso rappresenta l'esposizione media a granaglie miste.

Tabella 5.1 - Attività dell'industria granaria e corrispondenti livelli di esposizione riportati in alcuni Paesi; fonte: traduzione da Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive (HSE, 2010). NB: La Tabella elenca le attività sotto le definizioni di pulizia, attività agricole inclusa raccolta ed essiccazione granella, attività ai terminal, molitura e maltatura. Le esposizioni sono date come risultati di campionamenti (probabilmente) personali (PPS), (probabilmente) statiche (PS), statiche (ST) o in tempo reale (RT). Non vi sono informazioni disponibili per suddividere le attività di maltatura come esposizioni individuali basate sull'attività. I dati per le attività di molitura sono divisi tra molitura automatizzata (*) e tradizionale (**)

Attività	Campione	Inalabile (mg m ⁻³)	Endotossine (ng m ⁻³)	Micotossina (pg m ⁻³)	Funghi/batteri (conta per m ⁻³)
Pulizia sedi e impianti					
- aria compressa	RT	>200			
- spazzamento	RT	50			
- pulizia silo PS	60	650			
Attività raccolta					
- guida trattore		10	100,000		10 ⁷ Funghi
	PPS	5			5.5x10 ⁵ Batteri
- stoccaggio granaglie	PPS	10	1,000		8 x 10 ⁵ Funghi 5.5x10 ⁶ Batteri
- Essiccazione ad aria calda	PS	5	1,200	50 OTA 250 DON 500 HT-2	10 ⁷ Funghi 10 ⁶ Batteri
- mietitrebbia senza cabina o esterno	PS	5 – 40	100,000		10 ⁷ Funghi 10 ⁷ Batteri
- mietitrebbia interno cabina	PS	1	350 2,000	50 OTA 0 DON 700 HT-2	10 ⁶ Funghi 10 ⁷ Batteri

Tabella 5.1 (segue)

Attività	Campione	Inalabile (mg m ⁻³)	Endotossine (ng m ⁻³)	Micotossina (pg m ⁻³)	Funghi/batteri (conta per m ⁻³)
Attività al terminal granaglie					
- carico nave	PPS	150	1,000,000		10 ⁵ Funghi 10 ⁷ Batteri
- scarico nave (in attesa)	PPS	100	1,000,000		10 ⁶ Funghi 10 ⁷ Batteri
- scarico nave (gru)	PPS	20			
- trasferimento granella (nastro trasportatore)	PPS/PS	10	100,000		10 ⁵ Funghi 10 ⁷ Batteri
- scarico nave (sollevatore a benna)	PPS	7			
- carico camion	PPS	5	10,000		10 ⁴ Funghi 2 x10 ⁴ Batteri
- trasferimento granella (sala controllo)	PPS/PS	1	10,000		10 ⁴ Funghi 10 ⁵ Batteri
Attività molitura					
miscela ingredienti (panificio)	PS	15**			
spalatura granella	PS	15			
Molitura	PS	2* & 5**			
confezionamento farina	PS	10**			
spazzamento mulino	PS	3* & 5**			
pulizia granella	ST	3			
gestione sacchi/stoccaggio	PS	3			
unità pulizia ST	3				
guida camionPS	1				
carico/scaricoPS	>1				
attività maltatura	PPS	10			

Una minore esposizione quando però è montata una cabina completamente chiusa sulla mietitrebbia con apporto di aria filtrata. Durante la raccolta è stata identificata la presenza di funghi nell'aria ma i metodi di campionamento ed analisi per queste componenti della polvere non sono standardizzati come per le polveri inalabili e respirabili ciò rende anche queste misurazioni degli indicatori insufficienti di esposizione. Attività complementari alla raccolta quali la guida del trattore, l'azionamento della coclea (presumibilmente per trasferire la granella in un magazzino o dal carrello all'essiccatore) comportano esposizioni un po' più alte rispetto alla mietitrebbiatura stessa. Un'attività che genera livelli di polveri inalabili superiori a quelli prodotti in fase di raccolta è la molitura. Da considerare anche operazioni quali il confezionamento e la miscelazione della farina (aggiunta di ingredien-

ti quali α -amilasi, glutine, minerali e vitamine) con importanti differenze se il processo avviene in forma (anche parzialmente) automatizzata o manuale.

Le attività di stoccaggio possono includere: l'essiccazione, come preparazione ad uno stoccaggio di lungo periodo, l'aerazione forzata dei cumuli di granella oppure il trasferimento di granella tra silos, per la ventilazione di granella stoccata, e lo svuotamento dei silos alla fine dello stoccaggio. Lo stoccaggio può essere altamente automatizzato ed implicare il trasferimento in remoto oppure essere più meccanizzato ed implicare la gestione di un muletto per spalare la granella in mucchi nei ricoveri in piano. Questa operazione genererebbe molta polvere rendendo l'attività ad alto livello di esposizione. L'essiccazione ad aria calda si distingue da quella a temperatura ambiente per le diverse maggiori concentrazioni di DON generate e in misura ridotta per le concentrazioni di OTA. Funghi del genere *Fusarium* e *Aspergillus* sono stati identificati nella granella stoccata, funghi del genere *Penicillium* sono stati identificati e quantificati nella granella stoccata ed essiccata, lasciando ipotizzare la presenza dei rispettivi metaboliti fungini nella polvere generata.

La presenza delle micotossine nelle polveri derivanti dai cereali non costituisce una preoccupazione solo per gli agricoltori ma anche per i lavoratori del comparto zootecnico. Alcuni studi hanno infatti evidenziato il riscontro di micotossine quali AFB1, ZEA, OTA ad es. nella polvere depositata o aerodispersa prodotta durante la pulizia dei bidoni impiegati per la somministrazione del mangime o negli ambienti chiusi di allevamenti avicoli.

La Tabella 5.2 riporta le percentuali relative al tempo impegnato nelle attività dell'industria granaria in Inghilterra (Institute of Occupational Medicine, 2010) e i potenziali livelli di polvere relativi a ciascuno dei sei settori dell'industria granaria esaminati (azienda agricola, import/export stoccaggio commerciale, maltatura, molitura e alimentazione animale). Le concentrazioni di polvere inalabile stimate andavano da 0.1 mg m^{-3} per il lavoro all'interno delle sale di controllo con aria filtrata a 200 mg m^{-3} durante l'uso dell'aria compressa per pulire la polvere depositata. Ad es. gli operatori della molitura trascorrono gran parte del loro tempo nelle sale di controllo (56%) mentre gli agricoltori la minor parte (2%). I livelli medi di polvere inalabile in ciascun settore produttivo variano da 0.9 mg m^{-3} per la produzione di cibo per animali a 3.2 mg m^{-3} per le attività agricole.

Lo studio ha individuato le attività ad alta esposizione che possono comportare un superamento del limite di esposizione in ambiente di lavoro di 10 mg m^{-3} (valore basato su una media ponderata relativa a giornate di lavoro di 8 ore). Tale limite è stato definito dal Control of Substances Hazardous to Health Regulations (COSHH) nel 2002 che ha indicato la polvere di grano come una sostanza pericolosa e ha proposto che esposizioni a breve termine non dovrebbero superare i 30 mg m^{-3} . Le attività a rischio che potrebbero determinare una esposizione ritenuta fortemente pericolosa sono: lavoro di magazzino, miscelazione di additivi, confezionamento, sblocco di intasamenti, carico navi, pulizia-spazzamento a secco, pulizia-maltatura, carico-spalatura e pulizia usando aria compressa. Da considerare, comunque, che in genere solo i lavori di magazzino ed il carico di navi sono tipicamente svolti per

più di un quarto della giornata lavorativa. Le informazioni sono quindi orientative soprattutto in relazione ad alcune attività del settore e si hanno ancora meno certezze in merito alle pratiche nelle aziende più piccole del settore granario soprattutto in una realtà come quella italiana per la quale non è disponibile una panoramica come quella prodotta dalla HSE. Notevole variabilità è causata oltre che dai livelli di contaminazione, dalle procedure lavorative adottate nelle singole aziende in cui può esservi un diverso grado di automazione e/o meccanizzazione dei processi adottati. Fondamentale è, inoltre, l'adozione delle GMP e dei presidi di prevenzione. Elms e coautori (2005) nella loro indagine hanno osservato che attività agricole come lo spazzamento a secco e la spolveratura a mano erano ancora adottate dalla maggioranza delle industrie di prodotti da forno visitate, la ventilazione locale era presente solo nel 28% delle aziende e meno della metà delle industrie di prodotti da forno presentava adeguate misure di controllo mostrando aspetti diversi dell'industria granaria che spesso sono associati anche alle piccole realtà produttive.

Tabella 5.2 - Tempo espresso in percentuale dedicato alle diverse attività dell'industria granaria e livelli stimati di polveri inalate; fonte: traduzione da Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive (HSE, 2010)

Attività	Livelli di polveri (mg m ⁻³)	Azienda agricola	Import Export	Stoccaggio Commerciale	Maltatura	Molitura	Alimentazione e animali
Sala Controllo con aria filtrate	0.1	2%	25%	25%	15%	56%	20%
Carico	0.5	-	10%	5%	15%	2%	5%
Ingresso	0.5	5%	14%	10%	10%	10%	10%
Ispezione abituale impianto	0.5	-	10%	10%	24%	5%	10%
Raccolta-interno cabina con filtrazione aria	1	30%	-	-	-	-	-
Essiccazione- controllo dei locali	1	1%	-	10%	5%	-	-
Altre pulizie - non-maltatura	1	9.50%	2.5%	2%	-	1%	10%
Pelletatura	1	-	-	-	-	-	41%
Lavoro magazzino	5	50%	10%	22%	14%	-	1%
Miscela additive	5	-	-	-	-	1%	1%

Tabella 5.2 (segue)

Attività	Livelli di polveri (mg m ⁻³)	Azienda agricola	Import Export	Stoccaggio Commerciale	Maltatura	Molitura	Alimentazione e animali
Confezionamento	5	-	-	-	-	23%	-
Sblocco ostruzioni	5	0.50%	0.50%	0.50%	1%	1%	1%
Carico navi	5	-	27%	-	-	-	-
Pulizia-spazzatura a secco	10	1%	1%	0.5%	1%	1%	1%
Altre pulizie- maltatura	10	-	-	-	15%	-	-
Carico-spalatura	10	1%	-	15%	-	-	-
Pulizia con aria compressa	200						
Livello di esposizione medio di lungo termine (8-hr) (mg m ⁻³)		3.2	2.2	2.9	2.7	1.5	0.9
Livello di esposizione di lungo termine del 90 th percentile (media su 8-hr) (mg m ⁻³)		19.0	14.0	18.0	17	10.0	6.3

5.2 Condizioni di lavoro che riducono la formazione di polveri: uso dei DPI per limitare l'esposizione dei lavoratori del comparto agro-zootecnico alle micotossine

La crescita anche in Italia dell'industria granaria con il passaggio in alcune realtà produttive della gestione nelle mani di grandi imprese e l'acquisizione di una sempre maggiore consapevolezza riguardante i rischi per la salute di natura occupazionale stanno portando alla introduzione di nuove procedure per una migliore operatività oltre che migliori pratiche commerciali. Questi cambiamenti hanno rafforzato la necessità di implementare le misure di sicurezza nell'ambiente di lavoro anche attraverso la manutenzione e il controllo della ventilazione locale, il monitoraggio dell'esposizione individuale a polveri nell'aria e l'impiego di protezioni respiratorie.

È indubbio che in alcune realtà produttive dell'industria granaria europea i cambiamenti osservati negli ultimi anni hanno indotto una riduzione dei livelli di esposizione alle polveri dovuta a:

- la spinta automazione dei processi di produzione e trasferimento nei magazzini, mulini ecc.;

- incremento dell'impiego dell'aspirazione nei processi di pulizia degli spazi (in sostituzione dello spazzamento) delle apparecchiature e degli abiti da lavoro;
- procedure di aspirazione sugli impianti di movimentazione e lavorazione della granella oltre che nei punti di caduta del materiale o di trasporto dello stesso;
- controllo a distanza dell'impianto di produzione;
- delocalizzazione di alcune attività quali la pulizia dei silos e delle aree aziendali, la guida dei camion ecc.;
- riduzione del numero di operai e aumento del numero di tecnici;
- uso di ruspe a lama nei magazzini in sostituzione della movimentazione manuale della granella durante i trasferimenti e lo stoccaggio (con aumento della capacità di movimentazione e ridotta esposizione alle polveri);
- minore impiego dei ventilatori per l'essiccazione rapida e della soffiatura con aria compressa per l'allontanamento della polvere;
- ventilazione degli ambienti chiusi per ridurre la polverosità ambientale;
- aumento della consapevolezza del rischio per la salute conseguente all'esposizione per via respiratoria a granaglie contaminate; incremento dell'uso di protezioni delle vie respiratorie (maschere antipolvere di tipo P3) e individuazione chiara delle aree in cui vanno usati i DPI.

Ulteriore condizione da adottare sarebbe lo spegnimento dei macchinari di produzione e l'interruzione della ventilazione di estrazione durante le operazioni di pulizia. Durante queste attività polverose dovrebbero essere peraltro indossati respiratori e tute protettive.

Lo spazzamento a secco è diffusamente utilizzato per pulire le zone alte come tubature, collettori e cornici e per spazzolare sotto ai forni ma sarebbe opportuno adottare sistemi di aspirazione. L'aspirazione è usata su macchinari come le confezionatrici, gli essiccatori, i filtri e i pavimenti, che sono facili da raggiungere con l'aspiratore. Semimaschere antipolvere usa e getta (generalmente di tipo P3) (eventualmente anche caschetti respiratori) dovrebbero essere disponibili negli impianti e indossati durante queste operazioni.

5.3 Dispositivi di protezione individuale delle vie respiratorie

I DPI delle vie respiratorie (o anche APVR cioè apparecchi di protezione delle vie respiratorie) sono dispositivi impiegati con lo scopo di evitare o minimizzare l'esposizione per via inalatoria a xenobiotici di natura microbiologica (batteri, virus) o chimica (polveri, fibre, vapori, gas). Il grado di protezione è assicurato dalla capacità filtrante del dispositivo che consente di trattenere le particelle allo stato aeriforme potenzialmente pericolose.

Virus, batteri, micromiceti o pollini sono trasportati in aria adesi in sospensione a particelle solide o liquide (bioaerosol) per periodi di tempo diversi in funzione delle loro dimensioni. Pertanto, nello svolgimento di attività che potrebbero cau-

sare dispersione di bioaerosol, gas, vapori e polveri, è necessario utilizzare i DPI per le vie respiratorie per prevenire il rischio di esposizione agli agenti nocivi. Ovviamente l'uso dei DPI deve essere preso in considerazione solo dopo o contestualmente alla individuazione e messa in atto di tutte le misure di contenimento possibili degli inquinanti aerodispersi. I DPI possono essere adoperati costantemente, per brevi periodi di tempo o quando i livelli ambientali del contaminante sono bassi avendo rispettato, nel caso dell'inquinamento da micotossine, le GAP e le GMP. I DPI più utilizzati per la protezione delle vie aeree sono le semimaschere facciali filtranti monouso che soddisfano i requisiti richiesti dalla norma tecnica UNI EN 149-2001 (semimaschere filtranti antipolvere). Le norme UNI EN definiscono i requisiti che i DPI devono possedere per ottenere la marcatura CE. Questi sono dispositivi muniti di filtri che proteggono bocca, naso e mento che devono essere sostituiti interamente quando non sono più efficaci. In fase di espirazione l'aria è eliminata attraverso il filtro o attraverso una valvola che riducendo la resistenza all'aria espirata rende più confortevole l'impiego del dispositivo. I filtri si suddividono in tre classi in funzione dell'efficienza filtrante: FFP1, FFP2 e FFP3. Le lettere FF sono l'acronimo di facciale filtrante, la lettera P indica la protezione dalla polvere, mentre i numeri 1, 2, 3 indicano il livello di protezione che varia da un livello basso > 80% per il P1, a un livello medio > 94% per P2 e alto > 99% per il P3. Sono classificati in antipolvere, antigas (anche questi divisi in tre classi a capacità crescente contrassegnate dai numeri 1,2,3, con una colorazione specifica ad es. bianco per polveri e fumi) e combinati che possono essere impiegati per trattenere polveri ma anche gas e vapori e sono identificati con una combinazione di lettere e numeri. Gli APVR facciali filtranti devono essere monouso e personali, possono essere impiegati per un solo turno lavorativo e devono essere sostituiti in caso siano visibilmente danneggiati, sporchi o contaminati da sangue o altri fluidi biologici o se l'esaurimento funzionale del materiale filtrante dovesse rendere difficoltosi gli atti respiratori; quelli riutilizzabili devono essere igienizzati prima di essere nuovamente indossati. Le semimaschere sono DPI riutilizzabili, con filtri sostituibili e coprono bocca, naso e mento (UNI-EN 140).

Le maschere intere (UNI-EN 136) sono DPI che coprono l'intero volto, sono riutilizzabili, con filtri sostituibili e provvisti di valvola di espirazione.

I filtri ed il DPI devono presentare in modo visibile, leggibile ed indelebile la marcatura CE e la data di scadenza che deve essere rispettata anche se i DPI sono stati conservati in idonee condizioni. non può essere ignorata.

Va precisato che non sono DPI le mascherine chirurgiche sprovviste di filtro, comunemente impiegate in ambito sanitario e nell'industria alimentare. Queste, infatti, appartengono alla categoria dei dispositivi medici e non proteggono l'operatore, bensì il paziente o l'alimento dalle possibili contaminazioni. La protezione degli occhi dalle polveri presuppone l'impiego di visori che limitino al minimo il campo visivo. La protezione del corpo dalla possibile penetrazione di polveri e aerosol può essere garantita dall'uso di tute intere con cappuccio e chiusura lampo e restringimenti elasticizzati ai polsi e alle caviglie. Al termine della procedura di

valutazione del rischio, nel DVR (documento valutazione dei rischi) dovrà essere indicato il DPI più idoneo da indossare (facciale filtrante, semimaschera, maschera a pieno facciale, autorespiratore). Gli APVR sono DPI di terza categoria per cui il loro impiego corretto presuppone la frequenza di un preliminare corso di formazione. Il DPI deve essere accompagnato da idonee note per un corretto utilizzo, idonea conservazione, pulizia e manutenzione.

5.4 Misure di protezione e prevenzione da adottare in base alle attività

Nella Tabella sottostante (Tabella 5.3) sono riportate le misure di controllo per specifiche attività dell'industria granaria. L'impiego dei dispositivi di protezione individuale non è sempre necessario se sono applicate le GAP e GMP quindi misure di controllo idonee. Tuttavia, il rischio da inalazione di micotossine, pur non essendo stato del tutto definito, può considerarsi alto in quanto associato all'esposizione a sostanze a probabile azione mutagena, genotossica e cancerogena. Per tali sostanze, vige il principio di precauzione che impone, in generale, una condotta cautelativa per quanto riguarda le decisioni politiche, economiche e gli aspetti applicativi su questioni scientificamente non chiare o controverse. Sulla base di quanto detto risulta comprensibile come sia necessario valutare la specifica struttura aziendale, considerando le varie attività svolte e le modalità operative. Un'analisi dettagliata consentirà di focalizzare l'attenzione sui punti critici e di individuare i DPI più idonei per minimizzare il rischio per l'operatore.

Tuttavia, spesso la letteratura riporta che i respiratori sono indossati da un numero limitato di operatori senza fornire però informazioni chiare sull'attività durante la quale sono utilizzati e la durata di impiego.

Nessuna forma di prevenzione può essere efficace se il datore di lavoro ed i lavoratori non sono consapevoli dei rischi a cui sono esposti. Il rischio da esposizione a micotossine riguarda un ampio numero di lavoratori che a vario titolo vengono a contatto con prodotti potenzialmente rischiosi e pertanto è fondamentale informare i lavoratori sul rischio associato alla manipolazione dei prodotti agroalimentari e anche alle attività complementari quali ad esempio: la manutenzione delle attrezzature e il trasporto.

La "valutazione del rischio" individua i pericoli, le azioni di prevenzione tendono a mitigare il rischio prioritariamente in forma collettiva e poi personale, ma questo percorso non può prescindere da attività informative e formative dei lavoratori. Mentre per un operatore sanitario, la percezione di un rischio biologico nei materiali trattati, è normalmente scontata, non sempre lo è per coloro che movimentano prodotti agroalimentari. La conoscenza del rischio, quindi, è il punto di partenza perché suscita prudenza nel lavoratore e lo obbliga a mantenere alta l'attenzione durante lo svolgimento del proprio lavoro. Nell'utilizzo dei dispositivi di prevenzione collettiva e personale, la formazione e l'addestramento sono fondamentali perché comportamenti errati possono addirittura aumentare il rischio a cui sono esposti i lavoratori.

Tabella 5.3 - Misure di controllo per specifiche attività dell'industria granaria; fonte: traduzione da Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive (HSE, 2010, traduzione)

Attività	Settore industriale	Elementi attività	Tipiche misure di controllo	Esposizione
Operazioni da sala di controllo	Azienda agricola		Separazione	Bassa
	Import/export	Macinatura e		
	Stoccaggio	misurazione	Ventilazione e	
	Commerciale	dell'umidità della	separazione	
	Molitura	granella		
	Maltatura			
		Monitoraggio della qualità della granella (inclusa l'umidità) in remoto via sensori;	Ventilazione (ambiente con aria condizionata) e separazione	Bassa
	Import/export			
	Stoccaggio			
	Commerciale	Macinazione e analisi dei campioni - lavoro di analisi in laboratorio	Ventilazione generalizzata (stanza con aria condizionata) sistema di aerazione per estrazione non applicato routinariamente (occasionale impiego di cappa)	
	Molitura			
	Maltatura			
	Mangime per animali			
	Azienda agricola	Trasferimento della granella (per e dall'essiccatore) per azionamento di nastri trasportatori e sollevatori	Ventilazione generalizzata (stanza con aria condizionata) e separazione	Bassa
	Import/export			
	Stoccaggio			
	Commerciale			
	Molitura			
	Maltatura			
	Mangime per animali			
	Import/export	Trasferimento della granella nell'impianto di lavorazione esterno all'essiccatore per azionamento di nastri trasportatori e sollevatori	Ventilazione generalizzata (stanza con aria condizionata) e separazione	Bassa
	Stoccaggio			
	Commerciale			
	Molitura			
	Maltatura			
	Mangime per animali			
	Import/export	Operazioni di controllo del processo (impostazione dei parametri operativi, avvio/chiusura e gestione dei processi)	Ventilazione generalizzata (stanza con aria condizionata) e separazione	Bassa
	Stoccaggio			
	Commerciale			
	Molitura			
	Maltatura			
	Mangime per animali			
Scarico di massa	Import/export	Abbassamento del beccuccio di consegna sul bidone e del cappuccio mobile di ventilazione locale sul vano cisterna e riempimento.	Ventilazione generalizzata e separazione. Durante il riempimento l'autista del camion resta nell'ufficio della pesa a	Bassa
	Stoccaggio			
	Commerciale			
	Molitura			
	Maltatura			
	Mangime per animali			

Tabella 5.3 (segue)

Attività	Settore industriale	Elementi attività	Tipiche misure di controllo	Esposizione
		Durante il riempimento il camion cisterna è fermo nell'area di carico ma gli operatori non hanno bisogno di stare in questa area o edificio	ponte, nella cabina del camion o in un'area lontano dalla polvere che si genera. L'addetto allo scarico inizia/termina il riempimento del camion dall'ufficio della pesa a ponte	
Ingresso	Import/export Stoccaggio Commerciale Molitura Maltatura Mangime per Animali	Montaggio/eliminazione del calzino antipolvere sul beccuccio prima/dopo lo sversamento	nessuna	Bassa
		Spazzamento dei residui di granella dall'interno del camion	RPE (FFP3)	Sconosciuta
		Inizio/termine dello sversamento del grano dalla cabina del camion	Separazione. Durante lo sversamento rimanere nell'ufficio della pesa a ponte o in aree dove non si genera polvere.	Bassa
Ispezioni routinarie delle operazioni	Import/export Stoccaggio Commerciale Molitura Maltatura Mangime per Animali	Transito nell'impianto e nei locali per fare un monitoraggio visivo dei locali e controllo dei processi automatizzati attivati dalla sala di controllo	nessuna	Bassa
Raccolta	Azienda agricola	Raccolta in campo (mietitebbiatura) e scarico dal carrello nell'area provvisoria	nessuna	Bassa
Essiccazione della granella	Import/export Stoccaggio Commerciale Maltatura	Attivazione manuale dell'essiccatore dalla console vicino all'essiccatore	nessuna	Bassa
Altra pulizia non maltatura	Azienda Import/export Stoccaggio Commerciale	Pulizia con aspiratore dell'essiccatore alla fine del raccolto	DPI (FFP3)	Limitata

Tabella 5.3 (segue)

Attività	Settore industriale	Elementi attività	Tipiche misure di controllo	Esposizione
	Molitura Maltatura	Impianti di pulizia con vuoto e impianti che utilizzano regolarmente la linea di aspirazione interna (pulizia continua dei locali, dedicando un turno alla settimana alla pulizia degli impianti e dei locali o alla pulizia dell'area di lavoro	DPI (FFP3)	Limitata
	Maltatura	Pulizia umida del pavimento bagnato con veicoli per la pulizia stradale	Separazione (autista nella cabina dei veicoli)	Bassa
	Aziende Stoccaggio commerciale Maltatura Mangime per animali	Pressione manuale per il lavaggio di locali e veicoli	Utilizzo facoltativo dei DPI	Sconosciuta
Pelletizzazione	Molitura Produzione di malto	I rifiuti organici derivanti dalla produzione di farina (polveri fini, crusca, ecc.) sono miscelati con acqua e talvolta con agenti leganti e pressati per produrre mangimi per l'alimentazione animale	Separazione (in un ambiente dedicato nel mulino)	Bassa
	Mangime per animali	Alimenti per animali prodotti mediante pressatura di cereali per mangimi	nessuna	Sconosciuta ma in genere ritenuta insignificante
Operazione di stoccaggio	Aziende Import/export Stoccaggio Commerciale Maltatura Mangime per animali	Installazione di tubi di ventilazione a basamento o coclee nel capannone	nessuna	Bassa
		Ispezione delle operazioni di capannone automatizzate	nessuna	Sconosciuta ma in genere ritenuta insignificante

Tabella 5.3 (segue)

Attività	Settore industriale	Elementi attività	Tipiche misure di controllo	Esposizione
		Sblocco delle ostruzioni nei sistemi di trasferimento, ad es. elevatori	DPI (FFP3)	Bassa
		Spazzamento dei bordi (dei mucchi di grano) con pennelli	nessuna	Bassa
		Trasferimento del grano intorno al piazzale e dentro e intorno ai capannoni con veicoli	Separazione (cabina per il guidatore con aria condizionata e sistema di filtrazione)	Bassa
Miscelazione di additivi	Molitura Mangime per animali	Miscelazione della farina con i nutrienti rimossi durante l'operazione di macinazione e gli additivi utilizzando un processo operativo manuale per lotto	DPI (FFP3)/limitata frequenza di operazioni	Significativa
Imballaggio	Molitura	Impacchettamento manuale di unità per riempire contenitori di massa	DPI e chiusura del becco del contenitore sopra la bocca di tubo dispensatore della farina assicurandolo sul tubo	Bassa
		Operazione di riempimento meccanizzato/automatizzato per riempire sacchi da 25-75 kg	DPI e cicalino (un allarme induce l'interruzione del funzionamento)	Bassa
Eliminazione dei blocchi	Tutti i settori	Eliminazione delle ostruzioni nei sistemi di trasferimento, ad es. elevatori o impianti di lavorazione	DPI (FFP3)	Significativa
Carico della nave	Import/export	Spazzamento delle fuoriuscite dai camion che si rovesciano e presa della gru a guscio	Separazione dell'operatore della gru (aria condizionata e sistema di filtrazione in cabina) driver di chiusura) e DPI (FFP3) per operatori esterni	Sconosciuta

Tabella 5.3 (segue)

Attività	Settore industriale	Elementi attività	Tipiche misure di controllo	Esposizione
Pulizia spazzamento a secco	Tutti i settori	Spazzamento del pavimento del capannone tra montoni di grano e dei capannoni svuotati con spazzatrice meccanizzata	DPI (FFP3)	Sconosciuta
		Eliminazione per spazzamento delle fuoriuscite dagli impianti al chiuso o all'aperto	DPI (FFP3)	Sconosciuta
Altra pulizia del maltificio	Maltatura	Spazzatura a secco e allontanamento dei cumuli sotto e dentro il forno	DPI (maschera facciale con respiratore)	Significativa
		Lavaggio all'interno di passaggi e germinatori e sotto germinatori e forni con getti d'acqua	Tute in tela cerata e visiera	Bassa
Pulizia del silo	Maltatura	Raschiamento e spazzamento all'interno del silo vuoto	DPI (FFP3)	Significativa
Caricamento con una pala	Aziende Commercianti	Caricamento del camion aperto con caricatore a pala	Separazione (aria condizionata e sistema di filtrazione in cabina)	Sconosciuta
Operazioni di pulizia usando aria compressa	Tutti i settori	Espulsione della polvere depositata su superfici alte e sporgenze in locali e spazi inaccessibili, in impianti e veicoli	DPI (FFP3)	Significativa

6. Conclusioni

Le micotossine sono contaminanti naturali che inducono effetti dannosi negli organismi superiori sia in seguito ad un'esposizione acuta che cronica. Inizialmente furono identificate come agenti causali di intossicazioni negli animali e solo più tardi ne fu verificata la pericolosità anche per l'uomo. Il problema del riscontro delle micotossine su alimenti di origine vegetale (e animale) e sui mangimi destinati agli animali di interesse zootecnico è diventato negli anni molto stringente perché si è acquisita consapevolezza del fatto che la contaminazione è particolarmente diffusa e ubiquitaria determinando gravi danni economici e per la salute pur non essendo facilmente manifesta. Alcuni funghi (ad es. il *Fusarium moniliforme*) infatti instaurano addirittura un rapporto endofitico con il substrato di crescita (mais) vivendo all'interno dei tessuti della pianta e conferendole alcune qualità positive quali una maggiore resistenza alle malattie ed agli insetti. Questa condizione risulta particolarmente pericolosa poiché il ritrovamento della tossina su piante anche in assenza di effetti fitotossici suggerisce che il pericolo legato alla sua presenza viene sicuramente, abitualmente, sottostimata. Inoltre, l'assenza di una evidente contaminazione fungina non può consentire di escludere la presenza o la persistenza di micotossine per la elevata stabilità termica delle stesse e resistenza ai processi di trasformazione. Inoltre, i cambiamenti climatici cui stiamo assistendo stanno pericolosamente influenzando il comportamento dei micromiceti inducendo un crescente incremento della sintesi di micotossine. L'EFSA, sulla base di uno studio previsionale, ha ipotizzato che un incremento ulteriore di due gradi della temperatura ambientale potrebbe determinare un innalzamento nell'Europa meridionale dei livelli di contaminazione frequentemente riscontrabili a concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa. Per tali motivi occorre essere pronti ad affrontare un problema che si presume stia crescendo di intensità.

Le micotossine sono state ampiamente studiate dal punto di vista della contaminazione delle derrate alimentari ma non è stata analizzata in maniera esaustiva l'entità del loro assorbimento per via inalatoria e le conseguenze derivanti per la salute. Negli ultimi anni c'è stato un crescente interesse circa l'esposizione per via respiratoria alle micotossine, soprattutto nelle abitazioni danneggiate dall'acqua ma anche in ambienti lavorativi dove possono essere elevate le concentrazioni in aria di funghi e spore cioè tra gli agricoltori e i lavoratori delle industrie mangimistiche oltre al personale che accudisce gli animali in azienda. Allo stato attuale vi sono ancora molte incertezze sia sugli effetti tossici delle micotossine sull'apparato respiratorio dell'uomo che sul livello di esposizione in ambito occupazionale. Gli studi sperimentali eseguiti utilizzando micotossine purificate e vie di esposizione artificiali (ad es.

instillazione intratracheale) hanno dato risultati non facili da interpretare e correlare all'uomo sia per la diversa via di introduzione e veicolo utilizzati, che per la diversa risposta della specie da esperimento impiegata, che per la più alta dose utilizzata per il trattamento rispetto a quella ipotizzabile di esposizione in condizioni naturali. Inoltre, la sperimentazione è in genere effettuata somministrando un solo contaminante mentre in condizioni naturali sono diversi i generi fungini che possono contemporaneamente essere rilevati sullo stesso substrato di crescita, ciascuno in grado di produrre vari metaboliti tossici. Studi sperimentali dovrebbero essere condotti per caratterizzare gli effetti tossici e immunomodulatori di diverse micotossine da sole e in combinazione/miscele sulla reattività delle cellule delle vie aeree (immunitarie e non immunitarie) utilizzando sistemi di interfaccia aria-liquido in vitro e in vivo nei modelli animali preclinici. I risultati potrebbero consentire di ottenere informazioni chiare sulla correlazione tra un'esposizione occupazionale alle micotossine e tossicità per le vie respiratorie e dovrebbero permettere di stabilire livelli soglia di contaminazione delle polveri che cioè non costituiscono un rischio apprezzabile per la salute, differenziati per attività e per tempo di esposizione. Negli ultimi anni enti europei ed extraeuropei hanno proposto alcuni valori di tolleranza, adottati dai rispettivi Paesi di appartenenza, per i lavoratori del settore agro-zootecnico potenzialmente esposti, per via inalatoria, alle micotossine presenti nelle polveri di cereali. A tutt'oggi non si è trovato un accordo su una proposta condivisibile e in Italia manca ancora un valore limite di riferimento.

Diventa rilevante affrontare il problema su una base di prevenzione e precauzione. Negli ultimi decenni ci sono stati dei cambiamenti importanti nell'industria cerealicola tra cui un incremento della meccanizzazione e dell'automazione, una maggiore attenzione a limitare il rilascio di polvere nell'ambiente di lavoro associata ad un uso più attento e consapevole dei DPI. Infine, c'è stata una maggiore attenzione verso tutte le fasi produttive finalizzata ad ottenere un prodotto finito di alto livello qualitativo; ciò dovrebbe contribuire sia a limitare le contaminazioni da micromiceti e batteri nella granella sia, di conseguenza a ridurre l'esposizione a polveri inalabili e la presenza di spore e micotossine oltre che endotossine. In Italia tuttavia, una recente indagine Istat del 2013 indica per il comparto agricolo un rilevante impiego di lavoro a carattere familiare; ciò riflette la forma individuale e a conduzione diretta propria di una discreta parte delle aziende agricole italiane. Sia per queste piccole realtà lavorative che per quelle di maggiori dimensioni acquista rilevante importanza un'azione di divulgazione sia di quelli che sono i rischi per la salute derivanti da una esposizione a contaminanti non facilmente identificabili sia delle misure di prevenzione adottabili per contenere tale rischio.

A tale riguardo, l'adozione delle buone pratiche agricole (GAP) in fase pre-raccolta e delle buone pratiche di produzione (GMP) in fase post-raccolta e di stoccaggio consentono, se ben applicate, di limitare la contaminazione da micotossine. A tale proposito risulta fondamentale che i produttori di cereali siano adeguatamente formati sulle GAP/GMP e che mantengano uno stretto rapporto con consulenti agricoli, servizi di divulgazione e autorità nazionali per ottenere informazioni e

consigli sulle cultivar cerealicole e sui prodotti fitosanitari più idonei da utilizzare nella propria regione di produzione.

Oltre alla messa in atto di tutte le possibili misure per la prevenzione della contaminazione, risulta indispensabile contenere l'esposizione dei lavoratori attraverso una corretta informazione e sensibilizzazione dei datori di lavoro all'uso adeguato dei DPI durante specifiche attività occupazionali che comportano un rischio. Sebbene l'esposizione alla polvere di grano sia inevitabile ad es. durante la manipolazione diretta

di grano o paglia o durante la pulizia di superfici contaminate dalla polvere di grano, l'identificazione delle situazioni di elevata esposizione alle micotossine può aiutare i datori di lavoro a ottimizzare la sicurezza delle postazioni di lavoro e a scegliere i dispositivi di protezione più adeguati.

Sono auspicabili anche gli studi epidemiologici di monitoraggio dello stato di salute dei lavoratori agro-zootecnici potenzialmente esposti alle micotossine e degli effetti indotti. Tuttavia, l'utilità di questi studi diventa importante se questi sono associati allo sviluppo di idonei metodi analitici multi-residuali di rilevazione e quantificazione delle micotossine nell'aria.

7. Bibliografia

7.1 Riferimenti scientifici

Abdel-Hafez SI, Shoreit AA, Abdel-Hafez AI, el Maghraby OM. 1986. Mycoflora and mycotoxin-producing fungi of air-dust particles from Egypt. *Mycopathologia*. 93(1): 25-32.

Boonen J, Malysheva SV, Taevernier L, Diana Di Mavungu J, de Saeger S, de Spiegeleer B. 2012. Human skin penetration of selected model mycotoxins. *Toxicology*. 301: 21-32.

Bryla M, Waskiewicz A, Podolska G, Szymczyk K, Jedrzejczak R, Damaziak K, Sulek A. 2016. Occurrence of 26 mycotoxins in the grain of cereals cultivated in Poland. *Toxins*. 8.

Brinton WT, Vastbinder EE, Greene JW, Marx JJ Jr, Hutcheson RH, Schaffner W. 1987. An outbreak of organic dust toxic syndrome in a college fraternity. *JAMA*. 258(9): 1210-1212.

Burg WR, Shotwell OL, Saltzman BE. 1981. Measurements of air-borne aflatoxins during the handling of contaminated corn. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 42: 1-11.

Burg, WR., and Shotwell, O L. 1984. Aflatoxin levels in air-borne dust generated from contaminated corn during harvest and at an elevator in 1980. *Journal Association. Official Analytical Chemistry* 67: 309-312.

Catanante G, Rhouati A, HayatA, MartyJL. 2016. An Overview of Recent Electrochemical Immunosensing Strategies for Mycotoxins Detection. *Electroanalysis*. 28(8): 1750-1763.

Chakrabarti DK, Ghosal S. (1986). Occurrence of free and conjugated 12,13-epoxy-trichothecenes and zearalenone in banana fruits infected with *Fusarium moniliforme*. *Applied Environmental Microbiology*. 51(1): 217-9.

Ciegler A, Bennett JW. 1980. Mycotoxins and Mycotoxicoses. *BioScience*. 30(8): 512-515.

Creasia DA, Thurman JD, Jones III LJ, et al. 1987. Acute Inhalation Toxicity of T-2 Mycotoxin in Mice. *Fundamental and Applied Toxicology*. 8: 230-235.

Creasia DA, Thurman JD, Wannemacher RW, et al. 1990. Acute Inhalation Toxicity

- of T-2 Mycotoxin in the Rat and Guinea Pig. *Fundamental and Applied Toxicology*. 14: 54-59.
- D'Mello JP. *Handbook of Plant and Fungal Toxicants*. 1997. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Degen GH, Mayer S, Blaszkewicz M. 2007. Biomonitoraggio dell'ocratossina A nei lavoratori dei granai. *Mycotoxin Research*. 23(2): 88-93.
- Despot DJ, Kocsubé S, Bencsik O, Kecskeméti A, Szekeres A, Vágvölgyi C, Varga J, Klarić MŠ. 2016. Species diversity and cytotoxic potency of airborne sterigmatocystin-producing *Aspergilli* from the section *Versicolores*. *Science Total Environment*. 15;562: 296-304.
- Di Paolo N, Guarnieri A, Garosi G, et al. 1994. Inhaled Mycotoxins Lead to Acute Renal Failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 9: Suppl. 4: 116-120.
- Donnelly PJ, Stewart RK, Ali SL, Conlan AA, Reid KR, Petsikas D, Massey TE. 1996. Biotransformation of Aflatoxin B1 in Human Lung. *Carcinogenesis*. 17(11): 2487-2494.
- Dorribo V, Wild P, Pralong JA, Danuser B, Reboux G, Krief P, Niculita-Hirzel H. 2015. Respiratory health effects of fifteen years of improved collective protection in a wheat-processing worker population. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 22: 647-654.
- Eduard W, Heederik D, Duchaine C, Green BJ. 2012. Bioaerosol exposure assessment in the workplace: The past, present and recent advances. *Journal of Environmental Monitoring*. 14: 334-339.
- EFSA (18 dicembre 2017) L'EFSA, in visita ufficiale ai partner italiani, discute di micotossine e cambiamenti climatici. EFSA news, <https://www.efsa.europa.eu/it/press/news/171218-0>.
- Elms J, Robinson E, Rahman S, Garrod AN. 2005. Exposure to flour dust in UK bakeries: current use of control measures. *The Annals of Occupational Hygiene*. 49 (1): 85-91.
- Emanuel DA, Marx J Jr, Ault B, et al. 1986. Pulmonary Mycotoxicosis Revisited. *American Journal of Industrial Medicine*. 10: 305-306.
- Emanuel DA, Wenzel FJ, Lawton BR. 1975. Pulmonary Mycotoxicosis. 67: 293-297.
- Flemming J, Hudson B, and Rand TG. 2004. Comparison of inflammatory and cytotoxic lung responses in mice after intratracheal exposure to spores of two different *Stachybotrys chartarum* strains. *Toxicological Science*. 78: 267-275.
- Forgacs J. 1972. *Stachybotryotoxicosis*. *Microbial Toxins*. In: *Fungal Toxins*, 95-128, Kadis S, A. Ciegler; S.J. Ajl. Editori. Academic Press, New York.
- Ghio AJ, and Roggli VL. 1995. Mycotoxins and interstitial lung disease. *CREST editorials*. 108(5): 1185-6.

- Ghosh SK, Desai MR, Pandya GL, Venkaiah K. 1997. Airborne aflatoxin in the grain processing industries in India. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 58(8): 583-6.
- Hardin BD, Robbins CA, Fallah P, Kelman BJ. 2009. The concentration of no toxicologic concern (CoNTC) and airborne mycotoxins. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 72: 585-598.
- Hayes RB, Van Nieuwenhuize JP, Raatgever JW. 1984. Aflatoxin Exposures in the Industrial Setting: An Epidemiological Study of Mortality. *Food and Chemical Toxicology*. 22(1): 39-43.
- Inps (Istituto Nazionale Previdenza Sociale). 2017a. Statistiche in breve. http://servizi.inps.it/banchedatistatistiche/menu/aziende_agricole/focus.pdf.
- Inps (Istituto Nazionale Previdenza Sociale). 2017b. Osservatorio sui cittadini non comunitari. <https://www.inps.it/nuovoportaleinps/default.aspx?itemdir=52247>.
- Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive (HSE). 2010. Current control standards for tasks with high exposure to grain dust. HSE RR829 Research report.
- Istat (Istituto nazionale di statistica). 2009. <http://www4.istat.it/it/archivio/aziende+agricole/pagina/9>.
- Jakab GJ, Hmieleski RR, Zarba A. 1994. Respiratory Aflatoxicosis: Suppression of Pulmonary and Systemic Host Defenses in Rats and Mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 125: 198-205.
- Kelly JD, Eaton DL, Guengerich FP. 1997. Aflatoxin B1 Activation in Human Lung. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 144(1): 88-95.
- Krysinska-Traczyk E, Perkowski J, Kostecki M, Dutkiewicz J, Kiecana I. 2003. Filamentous fungi and mycotoxins as potential occupational risk factors among farmers harvesting various crops. *Medycyna Pracy*. 54(2): 133-138.
- Krysinska-Traczyk E, Perkowski J, Dutkiewicz J. 2007. Levels of fungi and mycotoxins in the samples of grain and grain dust collected from five various cereal crops in eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 14: 159-167.
- Louria DB, Finkel G, Smith JK, et al. 1974. Aflatoxin-Induced Tumors in Mice. *Sabouraudia* 12: 371-375.
- Malmberg P, Rask-Andersen A, Rosenhall L. 1993. Exposure to Microorganisms Associated with Allergic Alveolitis and Febrile Reactions to Mold Dust in Farmers. *Chest*. 103: 1202-1209.
- Marrs TC, Edginton JAG, Price PN, et al. 1986. Acute Toxicity of T-2 Mycotoxin to the Guinea Pig by Inhalation and Subcutaneous Routes. *British Journal of Experimental Pathology*. 67: 259-268.

- Massey TE, Stewart RK, Daniels JM and Liu L. 1995. Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to Aflatoxin B1 carcinogenicity. *Proc Soc Exp Biol Med.* 208(3): 213-227.
- Mayer V, Curtui E, Usleber M, Gareis. 2007. Airborne mycotoxins in dust of grain elevators. *Mycotoxin Research.* 23: 94-100.
- Melbostad E, Eduard W. 2001. Organic dust-related respiratory and eye irritation in Norwegian farmers. *American Journal of Industrial Medicine.* 39(2): 209-217.
- Meli R, Ferrante MC, Mattace Raso G, Cavaliere M, Di Carlo R, Lucisano A. 2000. Effect of fumonisin B1 on inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in LPS-stimulated J774A.1 cells. *Life Sciences.* 67(23): 2845-285.
- Ministero del Lavoro e della Previdenza Sociale, Decreto 9 aprile 2008. Nuove tabelle delle malattie professionali nell'industria e nell'agricoltura. GU n. 169 del 21-7-2008.
- Moretti A, Logrieco AF, Susca A. 2017. Mycotoxins: An Underhand Food Problem. *Methods in Molecular Biology.* 1542: 3-12.
- Niculita-Hirzel H, Hantier G, Storti F, Plateel G, Roger T. 2016. Frequent Occupational Exposure to Fusarium Mycotoxins of Workers in the Swiss Grain Industry. *Toxins.* 12; 8(12): pii: E370.
- Nikulin M, Reijula K, Jarvis BB, et al. 1996. Experimental Lung Mycotoxicosis in Mice Induced by *Stachybotrys atra*. *International Journal of Experimental Pathology.* 77: 213-218.
- Nordby KC, Halstensen AS, Elen O, Clasen PE, Langseth W, Kristensen P, Eduard W. 2004. Trichothecene mycotoxins and their determinants in settled dust related to grain production. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine;* 11 (1): 75-83.
- Nordby KC, Irgens LM, Kristensen P. 2006. Immunological exposures in Norwegian agriculture and pre-eclampsia. *Pediatric Perinatal Epidemiology.* 20(6): 462-470.
- Okiki PA and Ogbimi OA. 2011. Micro-fungi and mycotoxins in poultry dust. *Estud Biol.* 32/33 (76-81): 81-6.
- Olsen, JH.; Dragsted L, Autrup H. 1988. Cancer Risk and Occupational Exposure to Aflatoxins in Denmark *British Journal of Cancer.* 58(3): 392-396.
- Palmgren MS, Lee LS, Delucca AJ 2nd, Ciegler A. 1983. Preliminary study of mycoflora and mycotoxins in grain dust from New Orleans area grain elevators. *American Industrial Hygiene Association Journal.* 44(7): 485-8.
- Pang VF, Lambert RJ, Felsburg PJ, et al. 1988. Experimental T2 Toxicosis in Swine Following Inhalation Exposure: Clinical Signs and Effects on Hematology, Serum Biochemistry, and Immune Response. *Fundamental and Applied Toxicology.* 11: 100-109.

- Pinton P, Guzylack-Piriou L, Kolf-Clauw M, Oswald IP. 2012. The effect on the intestine of some fungal toxins: The trichothecenes. *Current Immunology Reviews*. 8: 193-208.
- Richard JL. 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses-an overview. *International Journal of Food Microbiology*. 119(1-2): 3-10.
- Rivka Barkai-Golan Editore. 2008. *Mycotoxins in Fruits and Vegetables*.
- Schlesinger RB. 1985. Comparative Deposition of Inhaled Aerosols in Experimental Animals and Humans: A Review. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 15: 197-214.
- Selim MI, Juchems AM, Pependorf W. 1998. Assessing airborne aflatoxin B1 during on-farm grain handling activities. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 59(4): 252-6.
- Sorenson WG, Simpson JP, Peach MJ III, et al. 1981. Aflatoxin in respirable corn dust particles. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 7: 669-72.
- Sorenson WG, Jones W, Simpson J, Davidson JI. 1984. Aflatoxin in respirable airborne peanut dust. *Journal Toxicology Environmental Health*. 14(4): 525-33.
- Straumfors A, Heldal KK, Wouters IM, Eduard W. 2015. Work tasks as determinants of grain dust and microbial exposure in the Norwegian grain and compound feed industry. *Annals of Occupational Hygiene*. 59: 724-736.
- Täubel M, Sulyok M, Vishwanath V, Bloom E, Turunen M, Järvi K, Kauhanen E, Krska R, Hyvärinen A, Larsson L, Nevalainen A. 2011. Co-occurrence of toxic bacterial and fungal secondary metabolites in moisture-damaged indoor environments. *Indoor Air*. 21(5): 368-75.
- Tralamazza SM, Bemvenuti RH, Zorzete P, de Souza Garcia F, Correa B. 2016. Fungal diversity and natural occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in freshly harvested wheat grains from Brazil. *Food Chemistry*. 196: 445-450.
- Visconti A, Boenke A, Doko MB, Solfrizzo M, Pascale M. 1995. Occurrence of fumonisins in Europe and the BCR—measurements and testing projects. *Natural Toxins*. 3(4): 269-74.
- Vogelgsang S, Hecker A, Musa T, Dorn B, Forrer HR. 2011. On-farm experiments over 5 years in a grain maize/winter wheat rotation: Effect of maize residue treatments on *Fusarium graminearum* infection and deoxynivalenol contamination in wheat. *Mycotoxin Research*. 27: 81-96.
- Wang Y, Chai T, Lu G et al. 2008. Simultaneous detection of airborne aflatoxin, ochratoxin and zearalenone in a poultry house by immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography. *Environmental Research*. 107(2): 139-144.
- Weidenböchner M. 2011. *Mycotoxins and their metabolites in humans and animals*. Editore Springer.

Zarba A, Hmieleski R, Hemenway DR, et al. 1992. Aflatoxin B1- DNA Adduct Formation in Rat Liver Following Exposure by Aerosol Inhalation. *Journal of Industrial Medicine*. 39: 209-217.

7.2 Immagini

Immagine di copertina : banca dati immagini Inail

Fig. 3.2 Mycology online <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/aspergillus/>).

Fig. 3.3 *Aspergillus flavus* (Fonte: Mycology online <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/aspergillus/>).

Fig. 3.4 (Fonte: Heather Hallen and Tom Volk, https://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/aug2005.html)

Fig. 3.5 Fonte: Heather Hallen and Tom Volk, https://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/aug2005.html.

Fig. 3.8 Fonte: <https://www.lg-italia.it/agriblog/piralide-del-mais-note-tecniche-per-il-controllo-della-seconda-generazione/>.

Fig. 4.2 Fonte: The Great Plains Laboratories, Inc - <https://www.greatplainslaboratory.com/gpl-blog-source/2017/8/10/a-brand-new-urine-test-for-mycotoxin-exposure>.

Fig. 4.4 Fonte: Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive - HSE, 2010.

Fig. 5.1 Fonte: Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive - HSE, 2010.

Fig. 5.2 Fonte: Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive - HSE, 2010.

Fig. 5.3 Fonte: Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive - HSE, 2010.

Fig. 5.4 Fonte: Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive - HSE, 2010.