



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

Micotossicosi e ruminanti, conoscere il problema

*Convegno 17 Marzo 2025
ANAFIBJ – Nutriservice*

Prof. Antonio Gallo

Department of Animal Science, Food and Nutrition (DIANA)

Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali

Università Cattolica del Sacro Cuore

Cosa sono le "micotossine"?

Le micotossine sono definite come molecole con **basso peso molecolare** prodotte da funghi che provocano una risposta tossica, sia nell'uomo che negli animali, in seguito ad esposizione.

Sono spesso molecole **molto stabili** e sono tutti **metaboliti secondari** di muffe appartenenti a diversi generi in particolare *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Penicillium* spp.

Altri generi funginei come *Alternaria*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Claviceps*, *Diplodia*, *Myrothecium*, *Monascus*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Pithomyces*, *Trichoderma* e *Stachybotrys* includono specie micotossigeniche

Ad oggi, ci sono circa 18'000 metaboliti secondari fungini descritti in Antibase2014, ma solo un numero ristretto ha ricevuto interesse scientifico dagli anni '60 in poi.

Effetto delle micotossine negli animali

Il termine **micotossicosi** si riferisce alle sindromi derivanti dall'ingestione, dal contatto con la pelle o dall'inalazione di questi metaboliti fungini.

Quando gli animali ingeriscono una o più micotossine, l'effetto sulla salute potrebbe essere **acuto**, il che significa che sono presenti segni evidenti di malattia che possono causare la morte dell'animale in un breve lasso di tempo. Tuttavia, la manifestazione acuta della micotossicosi è rara in condizioni di allevamento.

Gli effetti dell'ingestione di micotossine sono principalmente **cronici**, implicando **disturbi nascosti con riduzione dell'ingestione, della produttività e della fertilità**.

Tali effetti causano gravi perdite economiche attraverso cambiamenti clinicamente ambigui nella crescita degli animali, riduzione dell'assunzione di cibo o rifiuto del cibo, alterazione dell'assorbimento e del metabolismo dei nutrienti, effetti sul sistema endocrino e soppressione del sistema

Cronaca dell'interesse scientifico sulle micotossine



60s-70s

Aflatossine B1, B2, G1, G2, M1



80s-90s fino ad ora

OTA, FB1&FB2, ZEA
NIV, DON, T-2&HT-2, DAS



Micotossine «emergenti» principalmente da *Fusarium* spp.

«Micotossine che non sono né determinate di routine, né regolamentate legislativamente. Tuttavia, l'evidenza della loro incidenza è in rapido aumento»

Bikaverina (BIK), Culmorin (CUL) Acido Fusarico (FA),
Beauvericina (BEA) e Enniatine (ENN), Moniliformin (MON),
Fusaproliferina (FUS), Sterigmatocistina (STE)



Contaminazione da micotossine sul campo - Il caso italiano -

- 2003 → Aflatossine nella farina di mais Tutto il latte italiano era contaminato da AFM1. Il problema 1 anno dopo il formaggio
- 2007 → Aflatossine nel mais
- 2010 → Zearalenone e tossina T-2 e HT-2 nell'insilato di mais
- 2012 → Aflatossine nella farina di mais...sporadicamente nell'insilato di mais e nel mais ad alta umidità
- 2014 → Zearalenone e DON in cereali e insilati di piccoli cereali
- 2015 → Aflatossine nella farina di mais... sporadicamente nell'insilato di mais e nel mais ad alta umidità
- 2017 → Aflatossine nella farina di mais
- 2022 → Aflatossine nella farina di mais, nei pastoni e negli insilati di mais
- **2025 → Zearalenone e DON in insilati e pastoni di mais**

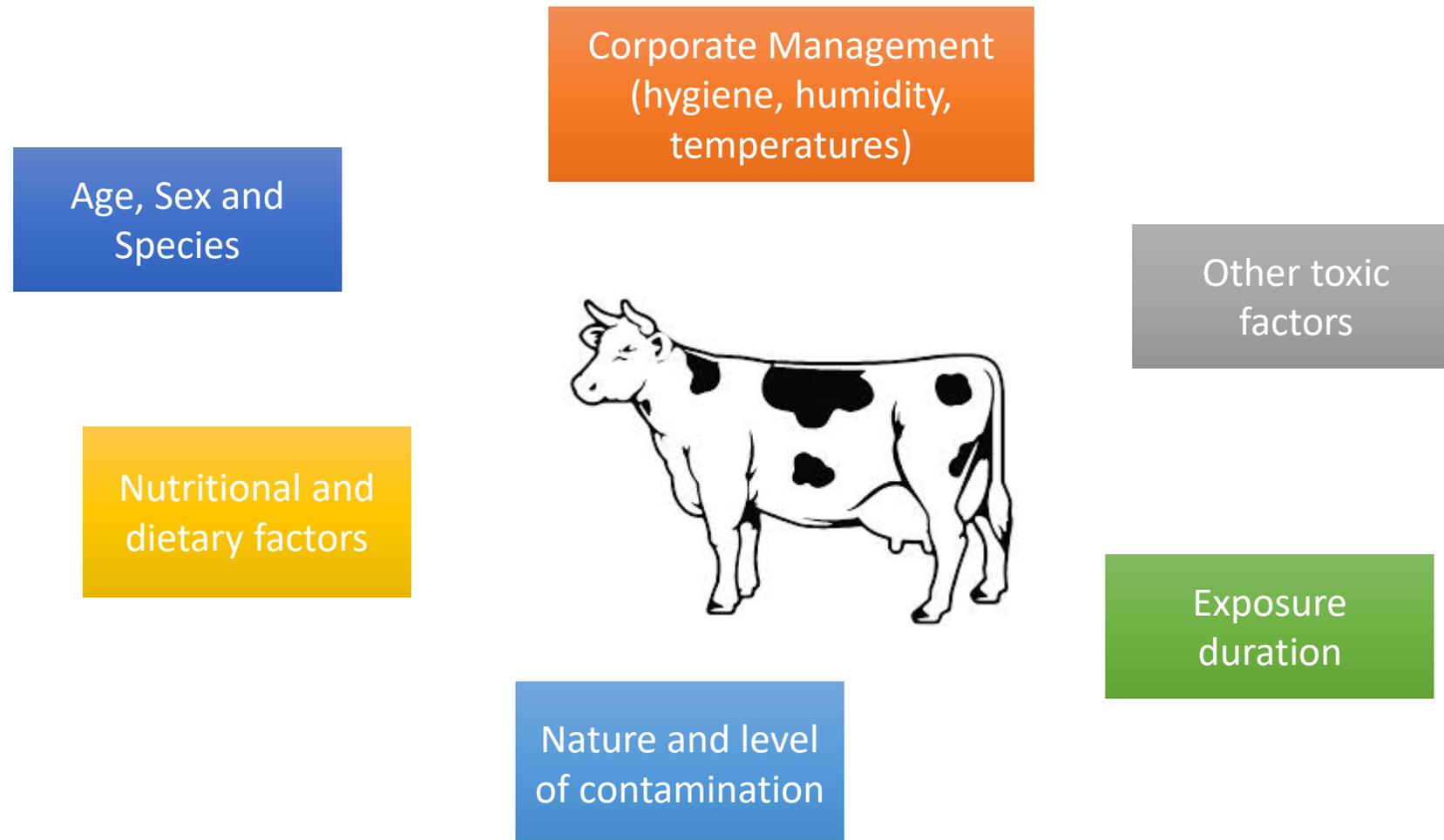
Quindi, la domanda era: «Cosa è cambiato negli ultimi 20 anni? Condizioni climatiche, aspetti agrotecnici, organizzazione delle filiere del mais?»

La risposta giusta «una maggiore consapevolezza del problema della contaminazione dei mangimi da micotossine tra le parti interessate!!!»

2015 → Review on Mycotoxin Issues in Ruminants.

Gallo A., Giuberti J., Frisvad J.C., Bertuzzi T., Nielsen K.F. Toxins 2015, 7, 3057-3111.

Mycotoxins influencing factors



Effects of mycotoxins on health status

AFB1, DON, T-2 toxin

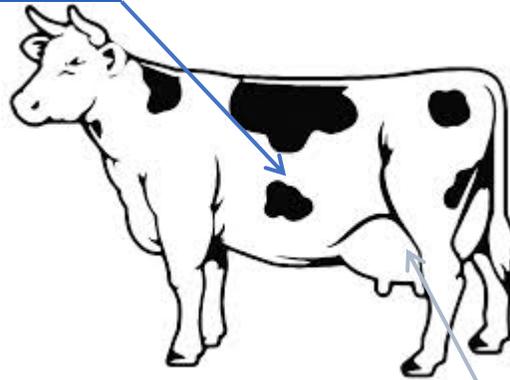
- Gastroenteritis
- Haemorrhagic intestine
- Reduces ruminal functionality
- Diarrhoea
- Ketosis

Ergot Alkaloids

- Impact Thermoregulation
- Convulsions

ZEA e Ergot

- Irregular heat
- Reduces CR
- Ovarian Cyst
- Loss of Embryos
- Abortions
- Reduced testicular development
- Reduced spermatogenesis



DON, T-2 toxin, Ergot

- Reduces DMI
- Reduces food efficiency

DON, Ergot, Endotossine

- laminiti

AFB1 toxic effects:

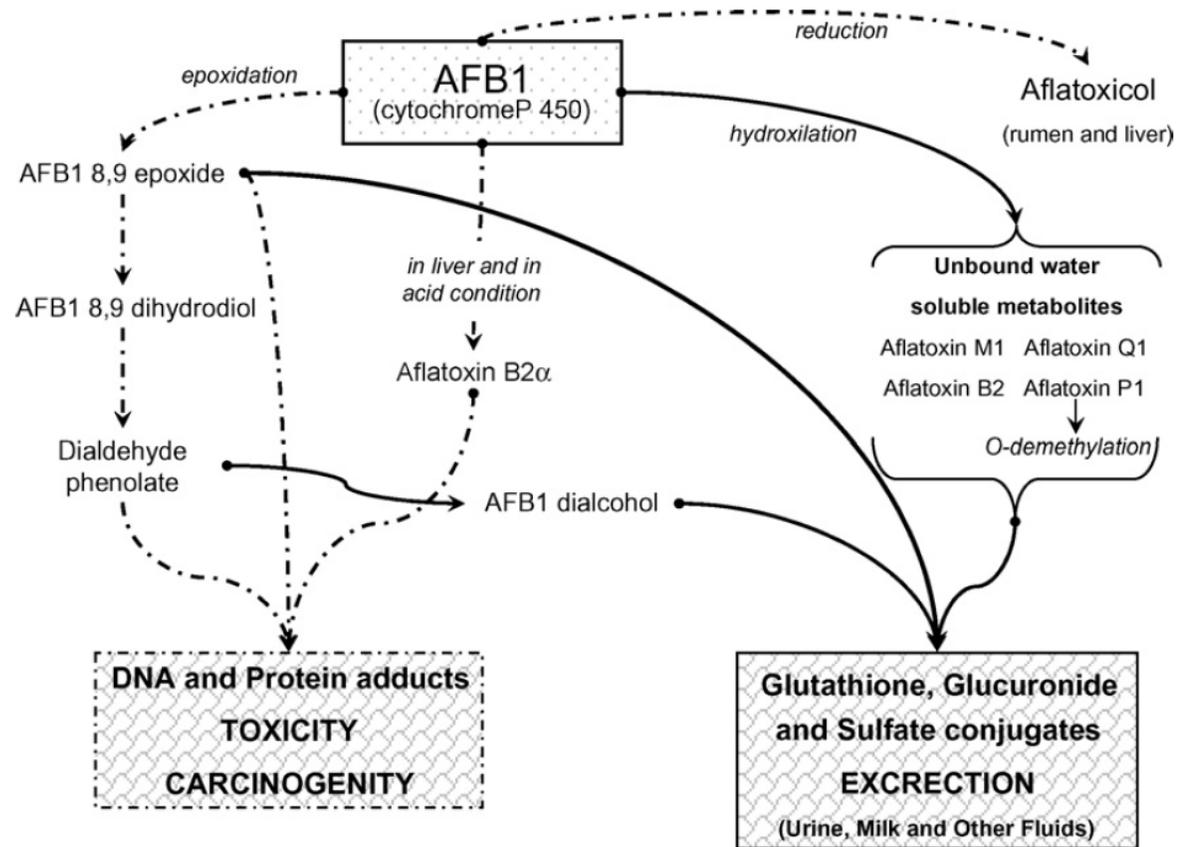
- Hepatotoxic, Hepatocarginogenic
- Neurotoxic, Nephrotoxic
- Homotoxic, Enterotoxic
- Osteotoxic, Immunosuppressive

AFB1, T-2 toxin, DON

- Metabolites in milk
- Reduces milk production
- Mastitis

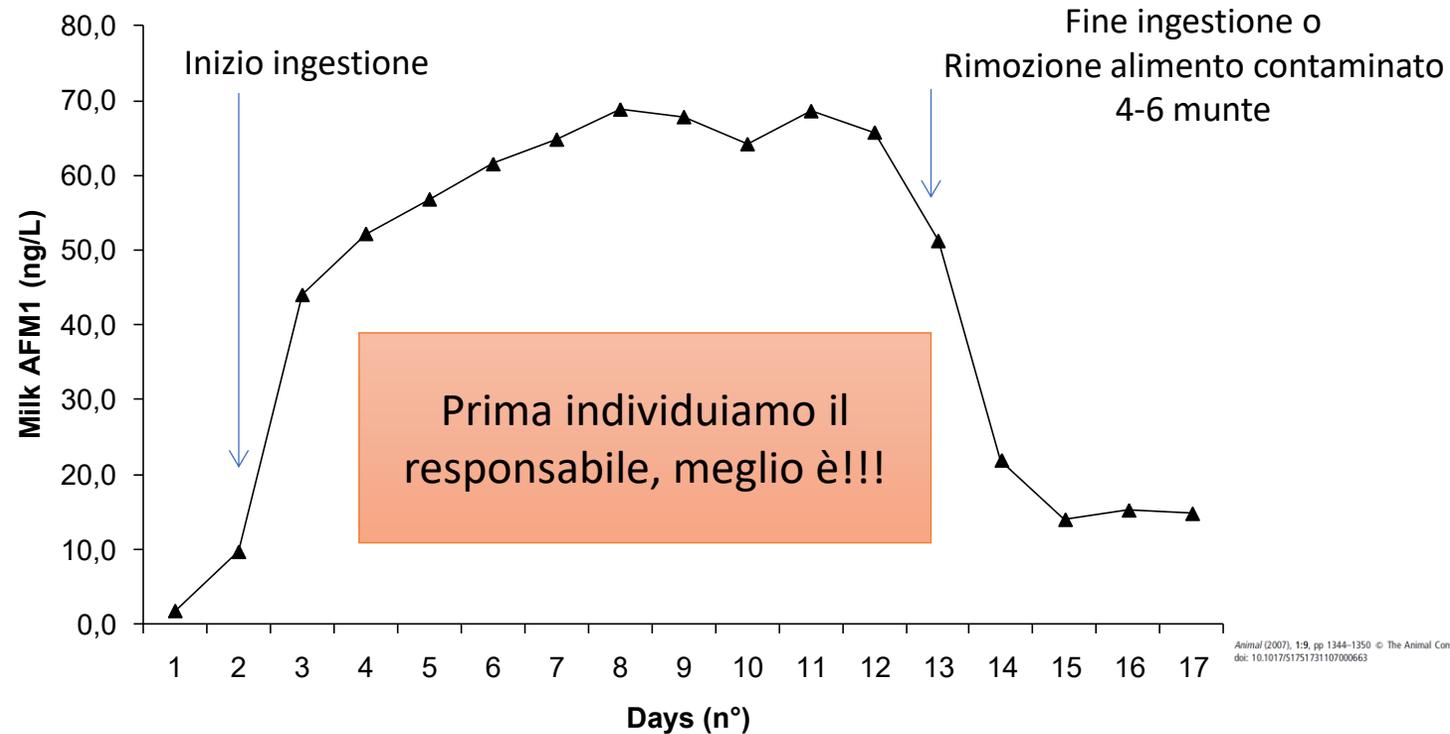
Aflatoxin Metabolism

Ingestion, contact and inhalation



Carry over dell'AFM1

- Ingestione continuata di partita contaminata (Es: 15 ppb x 6 kg di Mais)
- **Rapido aumento**, ma anche **rapida riduzione** (4-6 munte)



Animal (2007), 1:9, pp 1344-1350 © The Animal Consortium 2007
doi: 10.1017/S1751731107006663



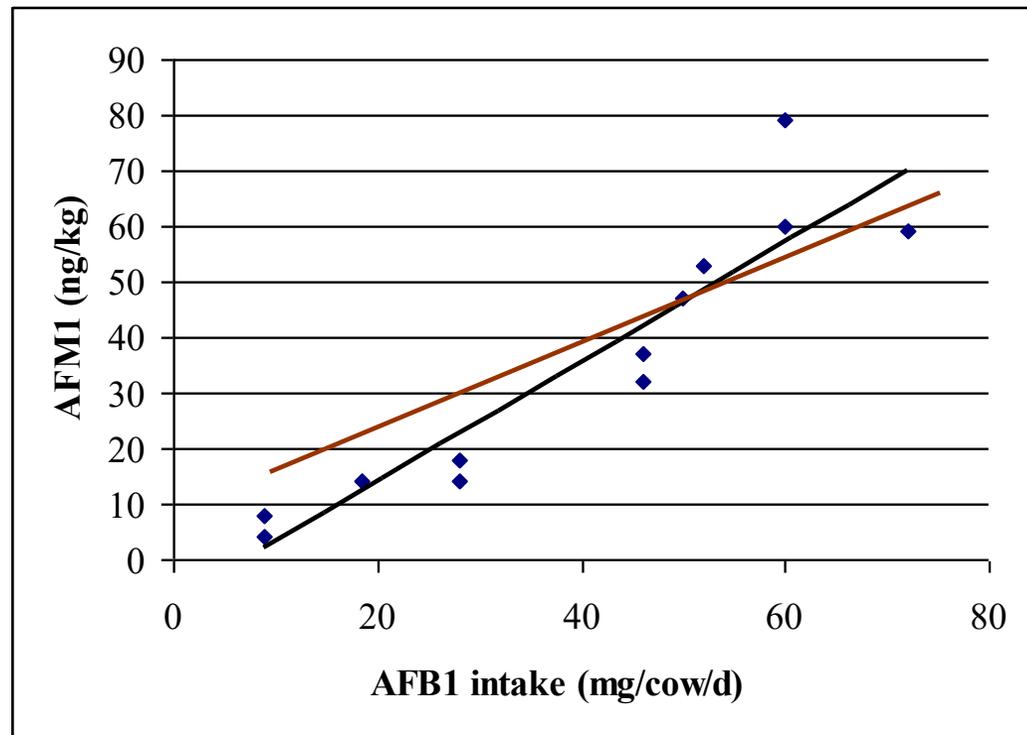
Carryover of aflatoxin from feed to milk in dairy cows with low or high somatic cell counts

F. Masero^{1†}, A. Gallo¹, M. Moschini¹, G. Piva¹ and D. Diaz²

Prevedere AFM1 nel Latte

BISOGNA RAGIONARE SU AFM1 LATTE

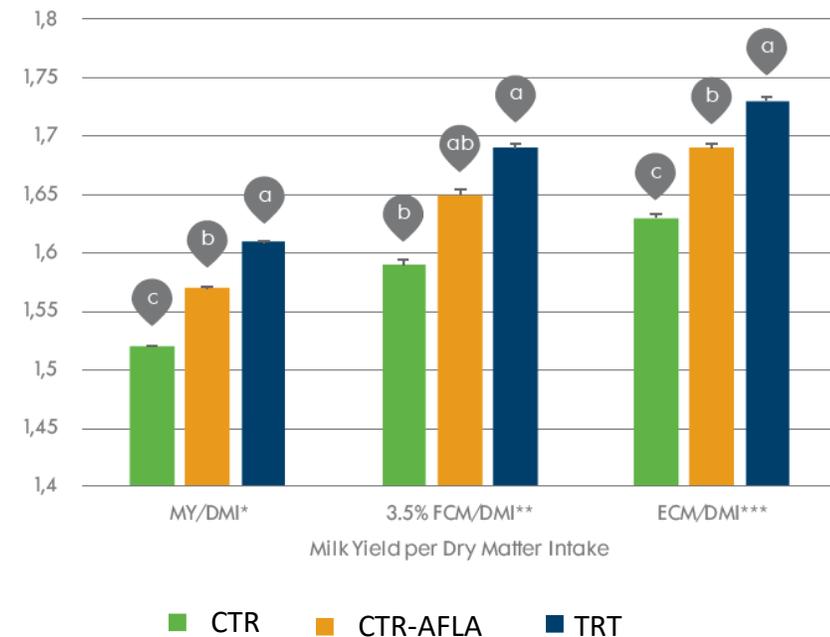
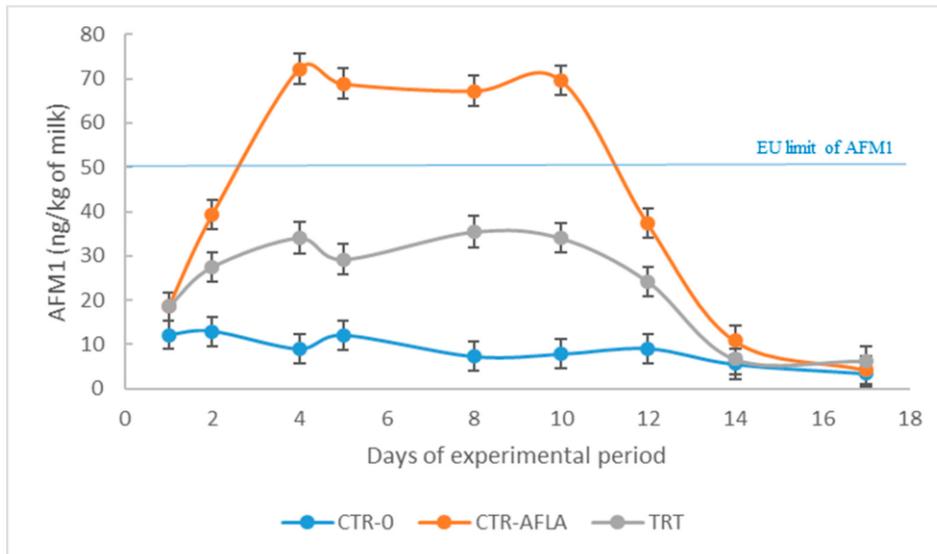
- $AFM1 \text{ (ppt)} = 1.19 \times AFB1 \text{ (}\mu\text{g/vacca/d)} + 1.9$
FUNZIONA BENE → Usiamo Questa
- $AFM1 \text{ (ppt)} = 0.787 \times AFB1 \text{ (}\mu\text{g/vacca/d)} + 10.95$



An Adsorbent reduces aflatoxin M 1 in dairy cow milk

Gallo A, Rocchetti G, Piccoli Cappelli F, Pavone S, Mulazzi A, van Kuijk S, Han Y and Trevisi E, 2020. Dairy 1, 135–153.

- ADS riduce significativamente il trasferimento dell'aflatossina B1 nel mangime all'aflatossina M1 nel latte
- ADS migliora significativamente l'efficienza alimentare misurata come produzione di latte per chilogrammo di materia secca ingerita
- L'esposizione a mangimi con concentrazioni di aflatossina B1 inferiori al limite dell'Unione europea (UE) provoca concentrazioni di aflatossina M1 che superano il limite normativo UE di 0,05 ppb.





Effect of Adsorbents on health status and milk

- Effects on Minerals and Vitamins
 - **No effect reported** (Katsoulos et al., 2005; Abeni et al., unpublished data)
- Effects on milk
 - **To date, no effect** can be attributed to the use of Adsorbents (Dr. Cattaneo; Migliorati et al., 2007)
- Effect on blood parameters
 - Partial reduction in average volume of erythrocytes (Abeti et al., unpublished data)
 - Partial hemoglobin reduction (Abeni et al., unpublished data)

Stato dell'arte: Effetti delle *Fusarium* micotossine nei ruminanti



DON, T-2 toxin

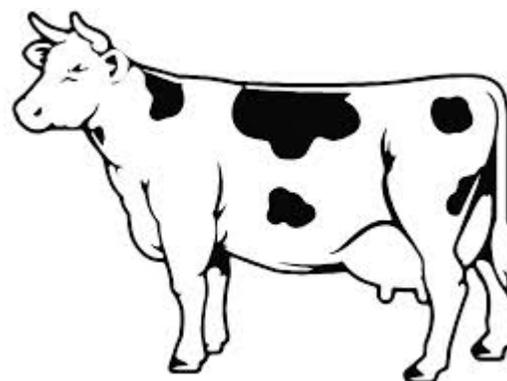
- Gastroenterite
- Intestino emorragico
- Riduce la funzione ruminale e l'assorbimento intestinale
- Diarrea
- Chetosi

Boguhn et al., 2010; Hildebrand et al., 2012; Jeong et al., 2010; Keese et al., 2008a; Dänicke et al., 2005

DON, T-2 toxin, DAS, FBs

- Rifiuto alimentare
- Ridotto DMI
- Ridotta efficienza alimentare

Trenholm et al., 1985; Kiyothong et al., 2012, Harvey et al., 1995



DON

- Laminiti
- Immunosoppressione

Korosteleva et al., 2007; 2009

ZEA

- Calori irregolari
- Ridotto CR
- Cisti ovariche
- Perdita embrionale
- Aborti
- Sviluppo testicolare ridotto
- Spermatogenesi ridotta

Weaver et al., 1986; Coppock et al., 1990; Smith et al., 1990

DON, FBs

- Alterazioni epatiche

Osweiler et al., 1993; Baker et al., 1999; Hochsteiner et al., 2000; Abeni et al., 2014;

DON, T-2 toxin

- Calo di produzione e qualità del latte
- Mastite

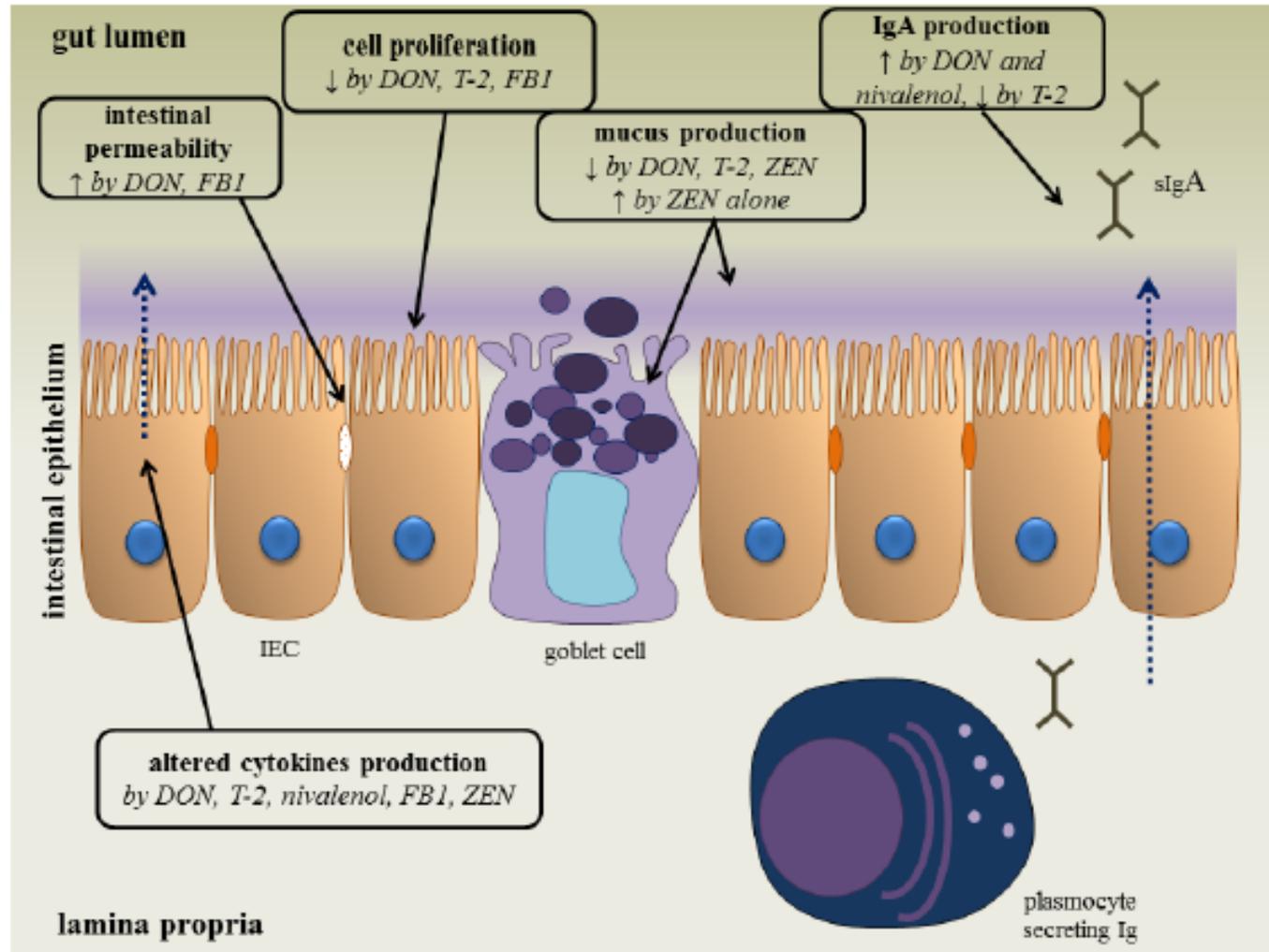
Charmley et al., 1993; Keese et al., 2008b; Fink-Gremmels, 2008

T2&HT2 → Prove tra gli anni 70-80 e su animali giovani. Nessuna informazione sul bestiame adulto (EFSA, 2011)

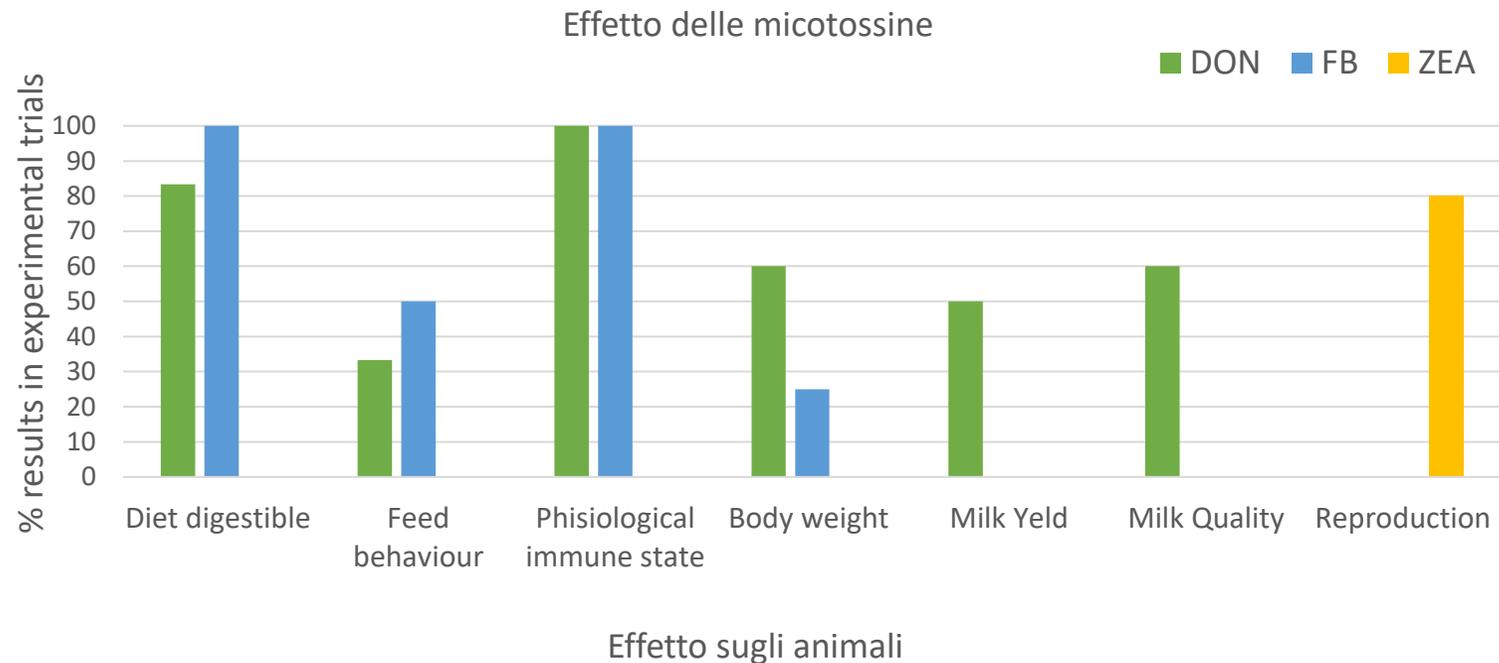
Nivalenolo, Fusarenon X → Nessuna informazione (EFSA 2013)

Beauvericina, Enniatine, Moniliformin → Nessuna informazione

L'effetto delle micotossine di *Fusarium* sull'epitelio intestinale



Dal 2015 in poi: Effetti dell'ingestione di micotossine di Fusarium nei ruminanti (Prova sul campo o FT e prova sperimentale o ET)



- Sintesi di 21 studi scientifici pubblicati dopo 2015
- Effetto delle micotossine Fusarium (DON, ZEN, FB)
- Se micotossine con effetti diversi sono state studiate nello stesso studio, ogni effetto è stato attribuito solo alla micotossina maggiormente presente e che poteva essere responsabile

Bibliography used: Durringer J.M. et al; 2020; World Myco. J.- Roberts H. L. et al.; 2021; Toxins- Gallo A. et al; 2020; J. Dairy Sci.- Danicke S. et al.; 2016; Arch. Anim. Nutr. - Jovaisiene J. et al.; 2016; Pol. Jour. Vet. S. - Kinoshita A. et al.; 2015; J. of Phys. and Anim. Nutr.- Jennings J.S. et al.; 2020; J. Anim. Sci. - Fushimi Y. et al.; 2015; Reprod Dom Anim. - Almeida Silva L. et al.; 2021; Reprod. Dom. Anim. - McKay et al., (2019); Anim. Feed Sci. Technol. - Hildebrand B. et al; 2012; J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. - Keese, C.; 2008; Arch. Anim. Nutr. - Keese, C.; 2008; Arch. Anim. Nutr. - Korosteleva, S.N.; 2007; J. Dairy Sci. - Ingalls, J.R.; 1996; Anim. Feed Sci. Technol. - Weaver, G.A.; 1986; Am. J. Vet. Res. - Coppock, R.W.; 1990; Vet. Hum. Toxicol. - Baker, D.C.; 1999; J. Vet. Diagn. Investig.- Osweiler, G.D.; 1993; J. Anim. Sci. - Mathur, S.; 2001; Toxicol. Sci.- Weaver, G.A.; 1986; Am. J. Vet. Res.

Effetti di due diverse miscele di farina di mais naturalmente contaminata da micotossine sulla crescita e sul profilo metabolico delle manze in accrescimento



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

Abeni et al. 2014 *Animal* 8:1667–1676

Manze in accrescimento

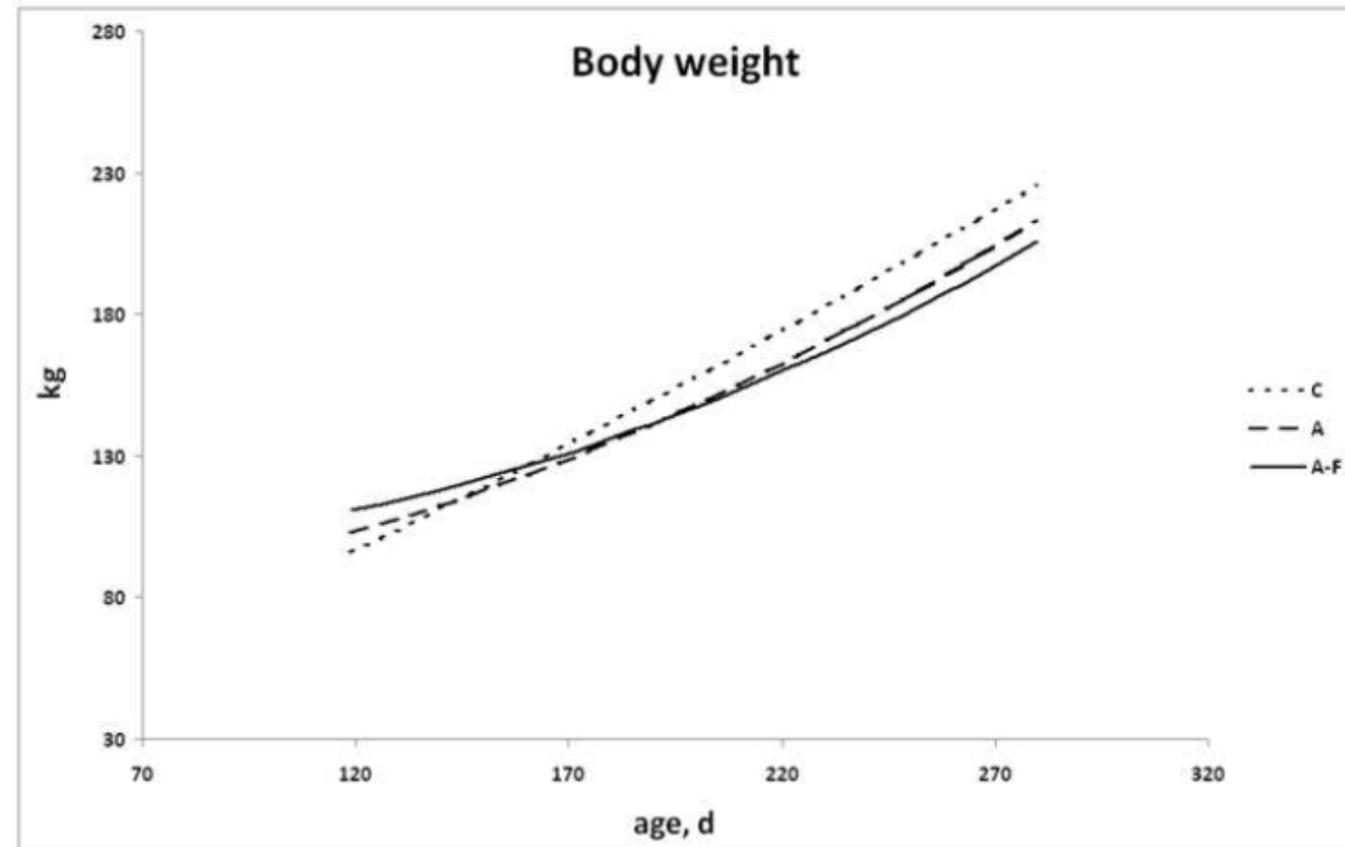
Intossicazione da 18 a 42 settimane di età

Contaminazioni della dieta

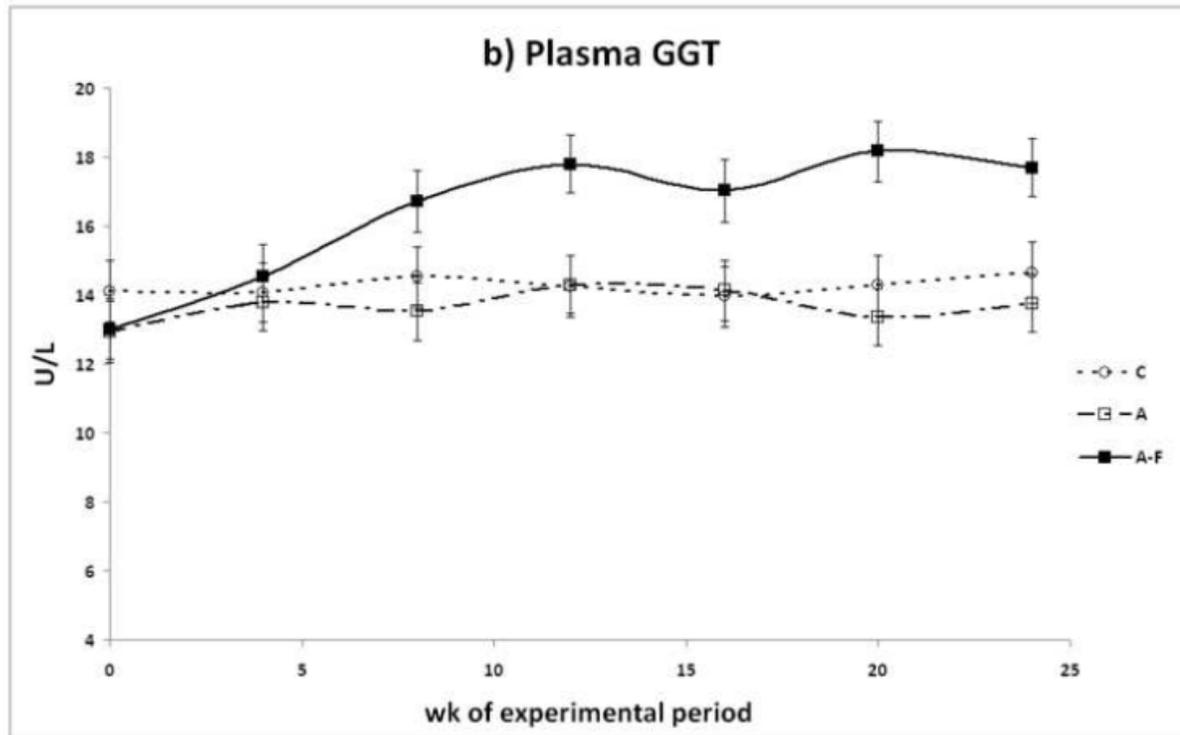
C = AFB1 1 ppb + FUMO 3 ppm

A = AFB1 12 ppb + FUMO 6 ppm

A + F = AFB1 20 ppb + FUMO 32 ppm



Effetti di due diverse miscele di farina di mais naturalmente contaminate da micotossine sulla crescita e sul profilo metabolico in giovenche da rimonta



A mycotoxin-deactivating feed additive counteracts the adverse effects of regular levels of *Fusarium* mycotoxins in dairy cows.

Gallo et al. 2020. *Journal of Dairy Science* 103, 11314-11331



Experimental periods in 3 x 3 Latin Square Design

Adaptation (14gg)

Spring Intoxication period (21gg)

Wash out (14gg)

Second intoxication period (21gg)

Wash out (14gg)

Third intoxication period (21gg)

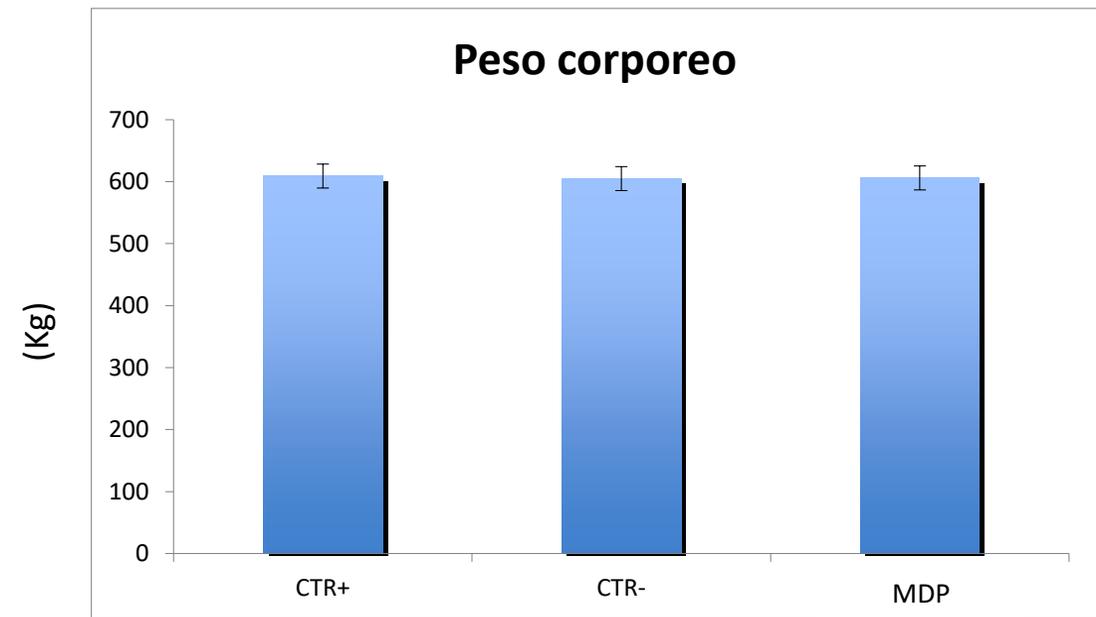
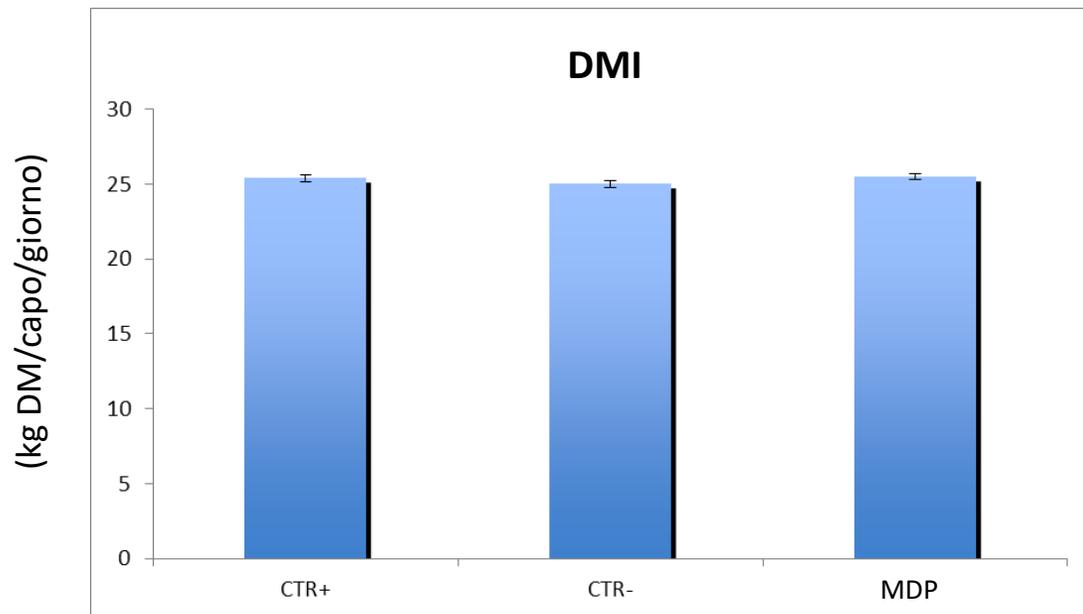
Contamination of diets

Mycotoxins (µg/kg DM)	Control	Contaminated Diet	Contaminated Diet + prodotto deattivante le micotossine
AFB1	0.057	0.445	
DON	447	1'061 (x 2-3 times)	
ZEA	7	37	
FB1+FB2	117	1'050 (x 10 times)	
HT-2	2	8	
T-2	6	31	

Animals	Latin Square	Period 1	Period 2	Period 3
Cow 1	Low MY	CTR-	CTR+	MDP
Cow 2	Low MY	MDP	CTR-	CTR+
Cow 3	Low MY	CTR+	MDP	CTR-
Cow 4	Medium MY	MDP	CTR+	CTR-
Cow 5	Medium MY	CTR+	CTR-	MDP
Cow 6	Medium MY	CTR-	MDP	CTR+
Cow 7	Medium MY	CTR-	MDP	CTR+
Cow 8	Medium MY	MDP	CTR+	CTR-
Cow 9	Medium MY	CTR+	CTR-	MDP
Cow 10	High MY	CTR+	CTR-	MDP
Cow 11	High MY	MDP	CTR+	CTR-
Cow 12	High MY	CTR-	MDP	CTR+

*A mycotoxin-deactivating feed additive counteracts the adverse effects of regular levels of *Fusarium* mycotoxins in dairy cows.*

- Nessuna variazione di BCS durante la prova
- Nessuna variazione della DMI (25,3 kg/capo/giorno)
- Nessuna variazione del peso corporeo (606 kg)



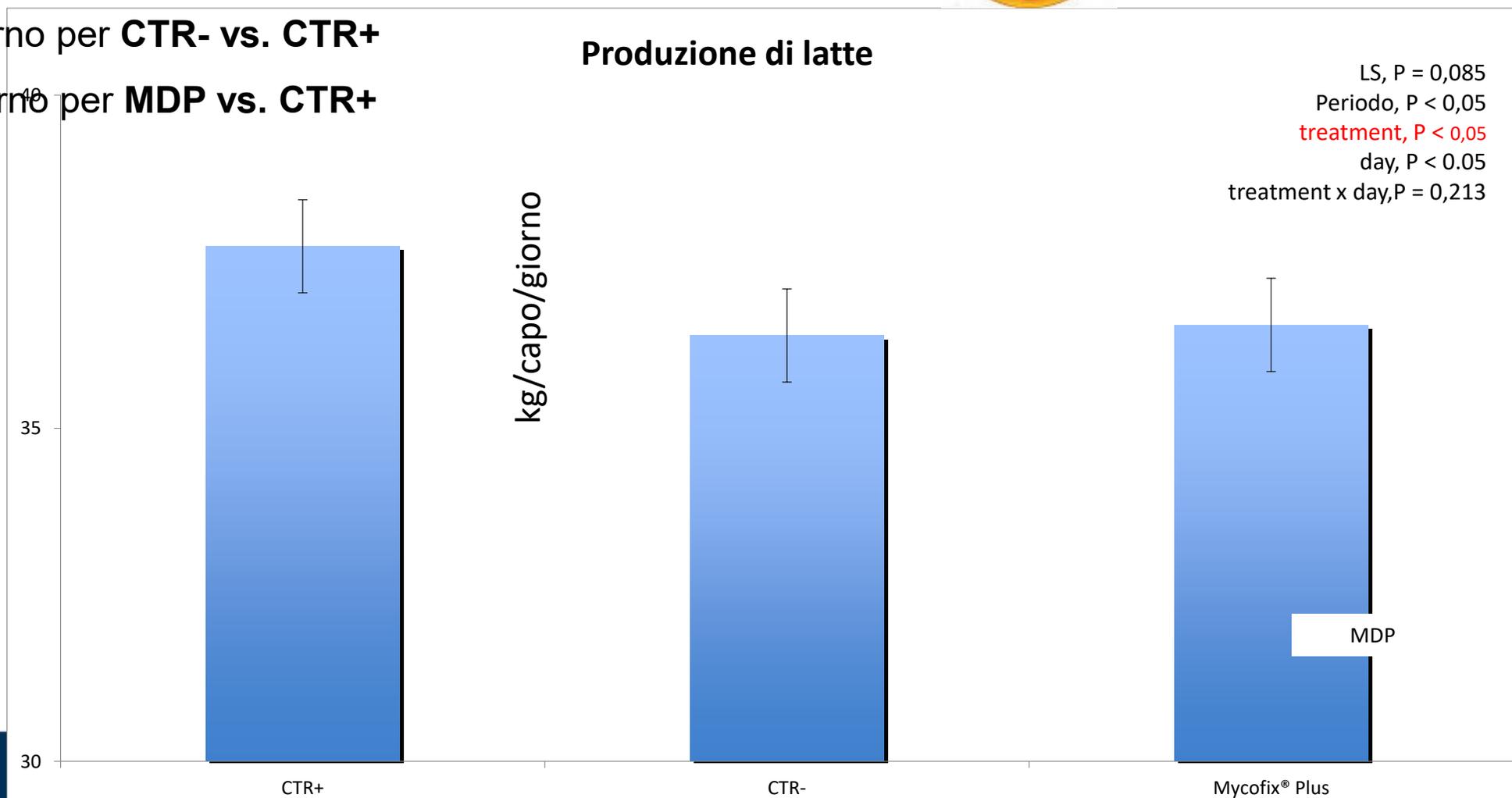
A mycotoxin-deactivating feed additive counteracts the adverse effects of regular levels of *Fusarium* mycotoxins in dair



La produzione di latte è stata ridotta di:

-1,34 kg/capo/giorno per CTR- vs. CTR+

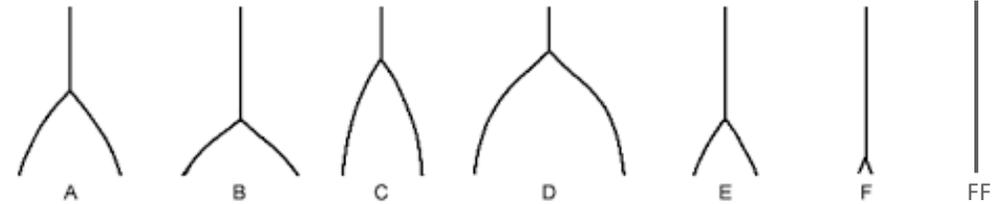
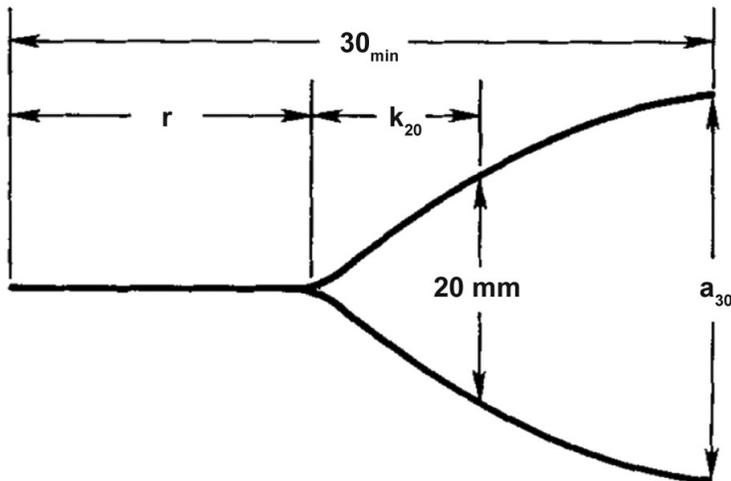
-1,14 kg/capo/giorno per MDP vs. CTR+



A mycotoxin-deactivating feed additive counteracts the adverse effects of regular levels of *Fusarium* mycotoxins in dairy cows.

Diagramma del **tempo di coagulazione** del caglio (r , min), del **tempo di rassodamento** (k_{20} , min) e della **consistenza del coagulo dopo 30 minuti** dall'aggiunta del caglio (a_{30} , mm) in funzione del tempo (curva lattodinamografica, Formagraph Foss Electric A/S, Hillerød, Danimarca).
Riportato da **Bittante et al. 2012**

Aggiunta dell'enzima

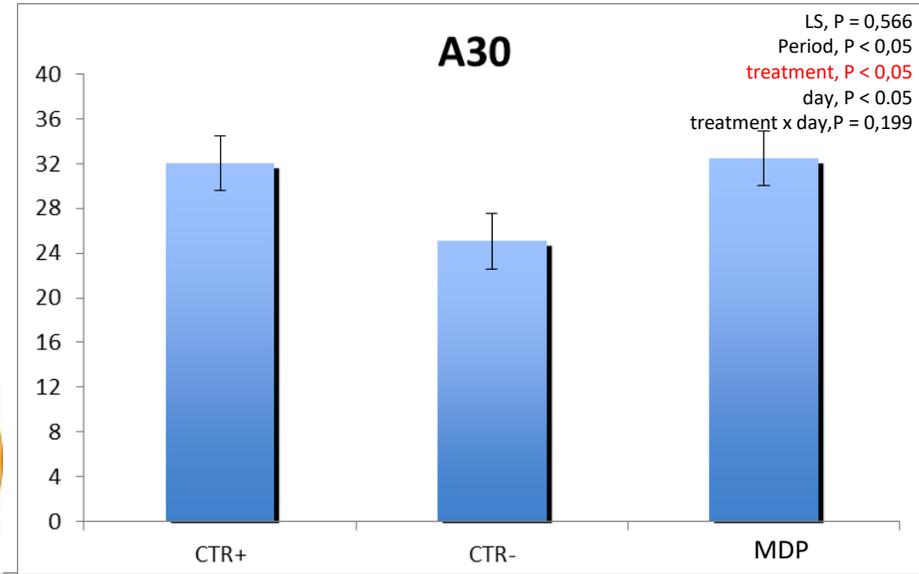
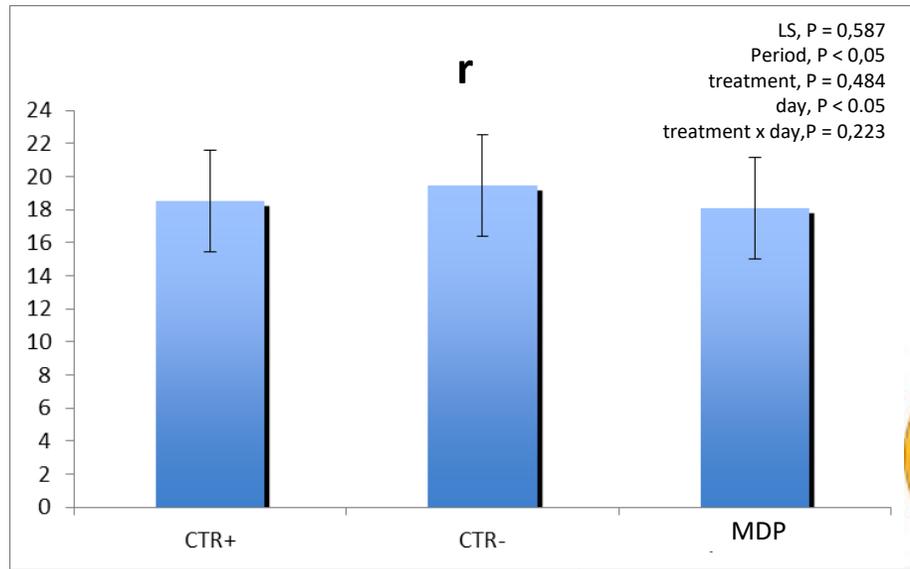


- A. Latte con **buone caratteristiche di coagulazione**.
- B. Latte con **lungo tempo di coagulazione** ma con **buona velocità di presa del coagulo** e **consistenza finale della cagliata relativamente elevata**. Questo in genere avviene con latte proveniente da bovine a **fine lattazione** e/o ricco in **caseina**.
- C. Latte con un **breve tempo di coagulazione** ma con una **bassa velocità di presa del coagulo** e con una **consistenza finale della cagliata piuttosto scarsa**. Questo solitamente avviene in latte **povero di caseina**, specialmente all'**inizio della lattazione**.
- D. Latte con **breve tempo di coagulazione**, **alta velocità di presa del coagulo** e **consistenza finale eccessiva**. Questo è un tratto tipico di latte maturo o proveniente da **bovine che si trovano nelle primissime fasi della lattazione**; talvolta latte proveniente da **razze tradizionali** (Bruna Alpina e Reggiana) possono avere questi tratti anche in condizioni normali.
- E. Latte con un **lungo tempo di coagulazione**, una **bassa velocità di presa** e **scarsa consistenza finale della cagliata**. Questo è causato da **predisposizione genetica**, **ipoacidità**, **mastiti**, latte che deriva da animali che hanno una **lattazione troppo prolungata**, **stress ambientali forti**, **errori nutrizionali** e **patologie in atto**.
- F. Latte con **lunghissimi tempi di coagulazione**, **bassissima velocità di presa** e **scarsissima consistenza finale della cagliata**.
- FF. Latte che **non coagula** nei tempi tecnici del test della lattodinamografia.

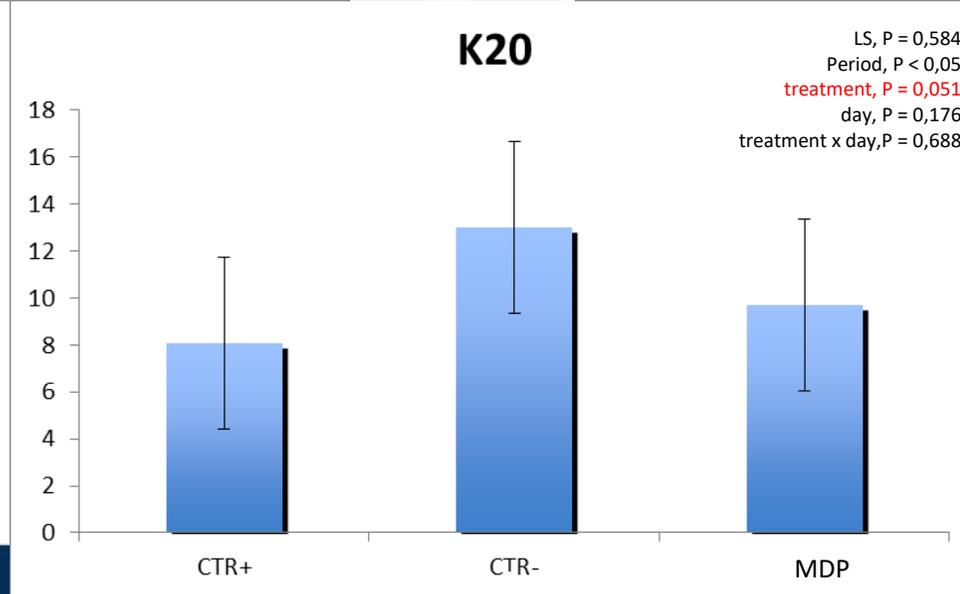
A mycotoxin-deactivating feed additive counteracts the adverse effects of regular levels of *Fusarium* mycotoxins in dairy cows.



Tempo di coagulazione
(r), min



Tempo di rassodamento
della cagliata (K20), min



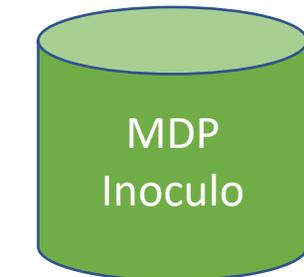
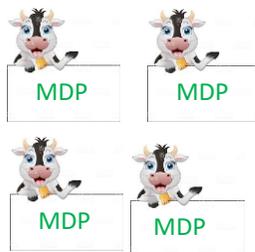
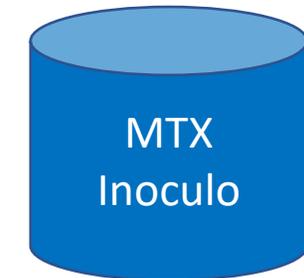
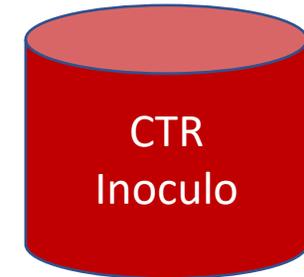
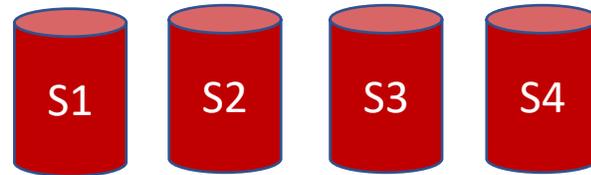
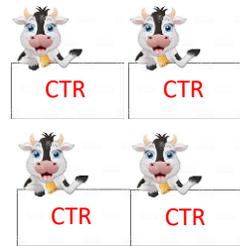
Cinetica della produzione di gas in presenza di micotossine da *Fusarium* nel liquido ruminale di bovine da latte in lattazione

Gallo A. 2021. JDS Communication 2, <https://doi.org/10.3168/jdsc.2021-0100>

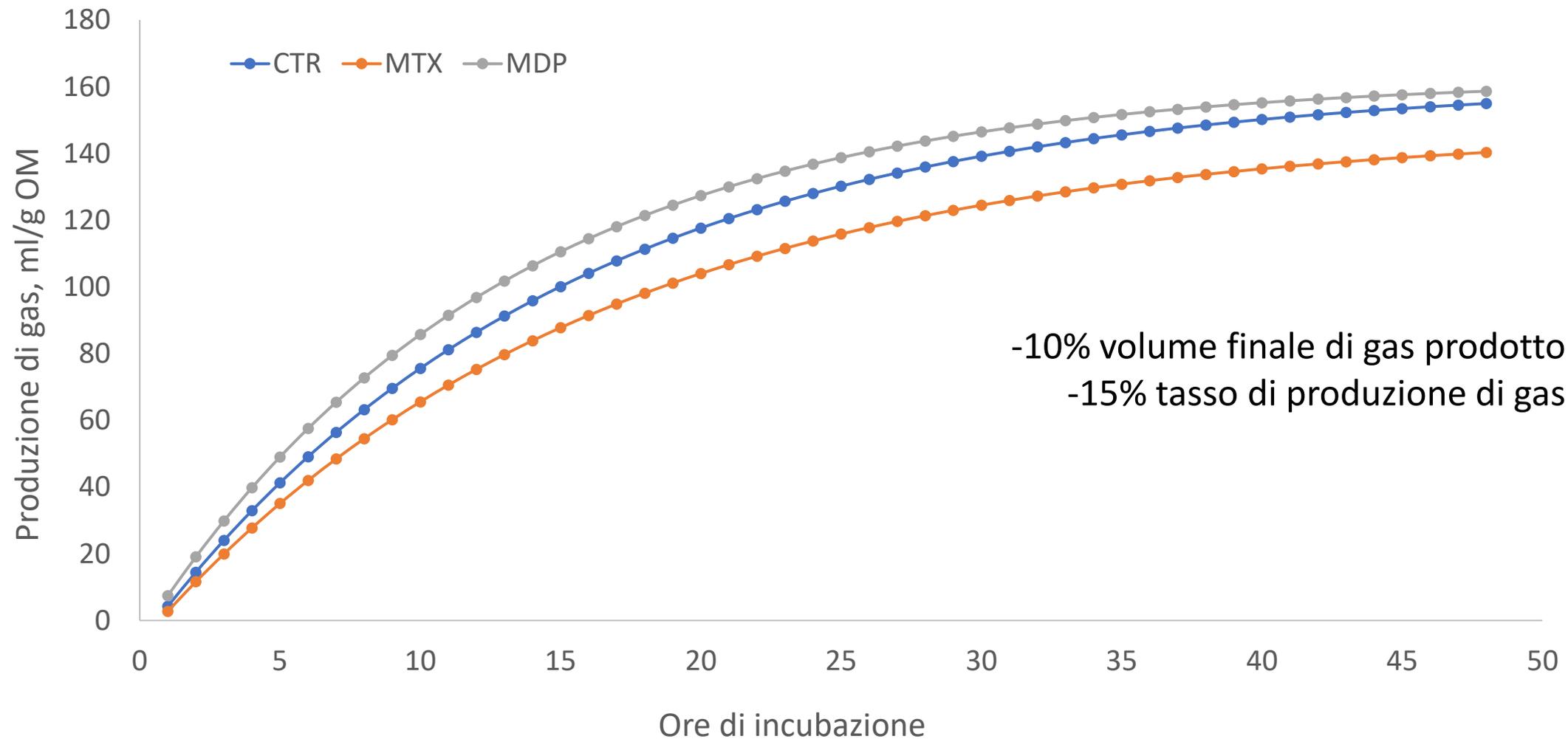
Per ogni periodo sperimentale
di 3 x 3 → Disegno Quadrato Latino
Dettagli in Gallo et al. 2020 (*J Dairy Sci.* 103.
<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18197>)

Campioni di fluidi ruminali raccolti tramite sonde
esofagee
12 fluidi ruminali per ogni periodo

Creazione di inoculi ruminali per test di produzione di gas *in vitro*
(CTR, MTX, MDP) per ogni test



Cinetica della produzione di gas in presenza di micotossine da *Fusarium* nel liquido ruminale di bovine da latte in lattazione



A mycotoxin-mitigating feed additive reduces the chronic adverse effects of moderate levels of *Fusarium* mycotoxins in dairy cows

Gallo A, Catellani A, Marotta M, Mosconi M, Mulazzi A, van Kuijk S, Han Y. 2022
13° Conference World Mycotoxin Forum, Parma 16-18 May 2022



- Poco si sa sugli effetti negativi dei livelli comunemente trovati di micotossine di *Fusarium* sulle prestazioni delle vacche da latte, soprattutto dopo un **lungo periodo di esposizione (54 giorni)**.
- Per studiare gli effetti di moderati livelli di contaminazione di deossinivalenolo (DON), zearalenone (ZEA) e fumonisine B1 & B2 (FB) nella unifeed (TMR) sulle vacche da latte, sono state utilizzate 31 vacche di razza Holstein in lattazione in un disegno completamente randomizzato.

Periodi Sperimentali

Adattamento (7 gg)

Periodo di intossicazione primaverile (54 gg)

Wash out (7 gg)

Periodo di intossicazione estivo (54 gg)

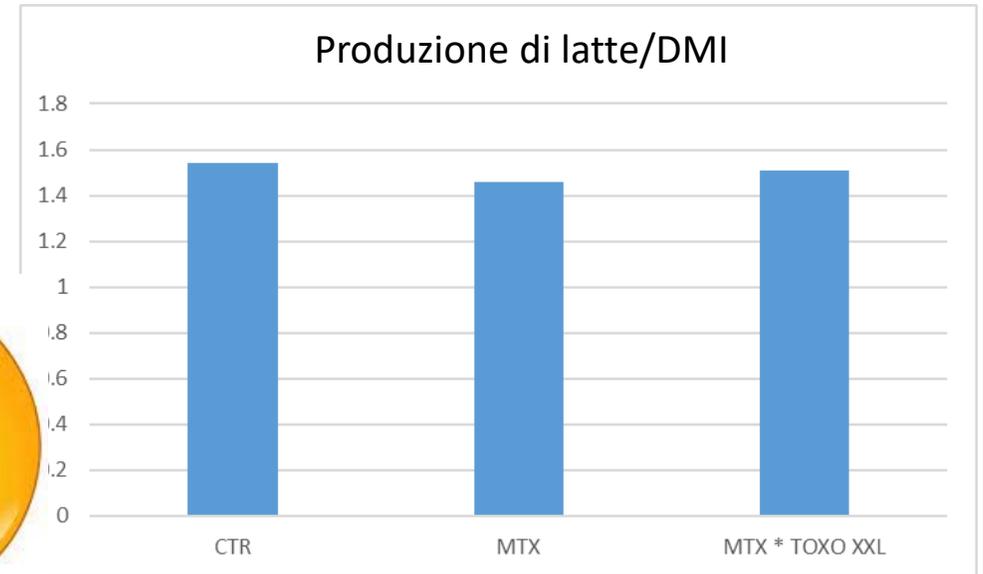
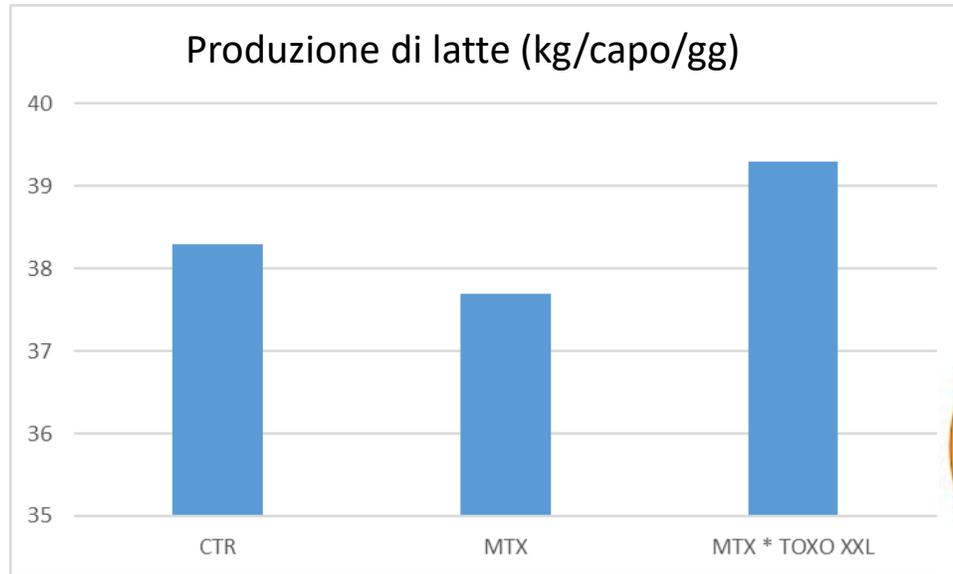
Wash out (7 gg)

Contaminazione delle diete

Micotossina (µg/kg DM)	Controllo	Contaminazione della dieta	Contaminazione della dieta + MDP
AFB1	nd	nd	
DON	284	1'020 (x2-3 volte)	
ZEA	43	230	
FB1+FB2	117	154 (x10 volte)	
HT-2	4		9
T-2	5		11

A mycotoxin-mitigating feed additive reduces the chronic adverse effects of moderate levels of Fusarium mycotoxins in dairy cows

Gallo A, Catellani A, Marotta M, Mosconi M, Mulazzi A, van Kuijk S, Han Y. 2022
13° Conference World Mycotoxin Forum, Parma 16-18 May 2022



Variabile		Trattamento			Periodo		sem	P del modello			
		CTR	MTX	MDP	1	2		Period	Treatment (T)	Week (W)	W * T
Indice di caseina	%	79.0	78.4	79.7	80.4	78.2	0.829	<0.05	0.208	<0.05	0.298
r	min	23.9	29.0	24.1	25.9	24.9	6.081	0.739	0.547	0.164	0.541
K20	min	7.98	10.50	8.21	9.26	8.46	1.299	0.653	0.738	0.157	0.087
a30	mm	18.99	12.27	18.78	17.82	16.60	11.302	0.795	0.675	0.775	0.571

Micotossine e ruminanti



I RUMINANTI sono meno suscettibili dei MONOGASTRICI

Il rumine rappresenta una difesa attiva:

- Attivo nella creazione di legami (con fibre, pareti di lievito, pareti batteriche, ecc.)
- Attiva nella de-attivazione/degradazione (protozoi, batteri, ecc...)

Mycotoxin	Main product of rumen metabolism	Reduction of biological potency	Estimated carry-over rates
Aflatoxin B1	aflatoxicol aflatoxin M ₁ ^d	minor minor	n.d. ^b 0–12.4 μg l ^{-1c} 2.0–6.2%
Cyclopiazonic acid	unchanged	unchanged	n.d. 6.4–0.7 μg l ^{-1e}
Fumonisin B1	unchanged	unchanged	0–0.05%
Ochratoxin A	ochratoxin-α	significant ^f	n.d.
T-2 toxin	various	significant	0.05–2%
DON (and related trichothecenes)	de-epoxy-DON (DOM)	significant	DON: 0.0001–0.0002 DOM: 0.0004–0.0024 ^g
Zearalenone	α-zearalenol	none	0.06–0.08% ^h
Patulin ⁱ	unchanged	unchanged	n.d.
Ergovalin	unchanged	unchanged	n.d.
Lolitrein	unchanged	unchanged	n.d.

Micotossine e ruminanti

La dieta dei ruminanti è molto più diversificata

- Concentrati
- Alimenti ricchi in proteine
- Sottoprodotti fibrosi e non fibrosi
- **Insilati (insilato di mais, insilato di sorgo, insilato di cereali autunno-vernini, insilato di leguminose, insilato misto graminacee - leguminose, fasciati, ecc.)**
- **Fieni (fieno di erba medica, fieno di loietto, fieno di erba, ecc.)**
- **Prati e pascoli**

Alimenti	Possibile contaminazione da micotossine
Concentrati	Aflatossine, fumonisine, ZEA, DON, altri tricoteceni, alcaloidi della segale cornuta, ecc.
Insilati	Patulina, acido micofenolico, roquefortine, fumitremorgens, cerruculogen, monacoline, ecc.
Fieni	Tossine dell'alternaria, acido ciclopiazonico, DON, altri tricoteceni, ecc.

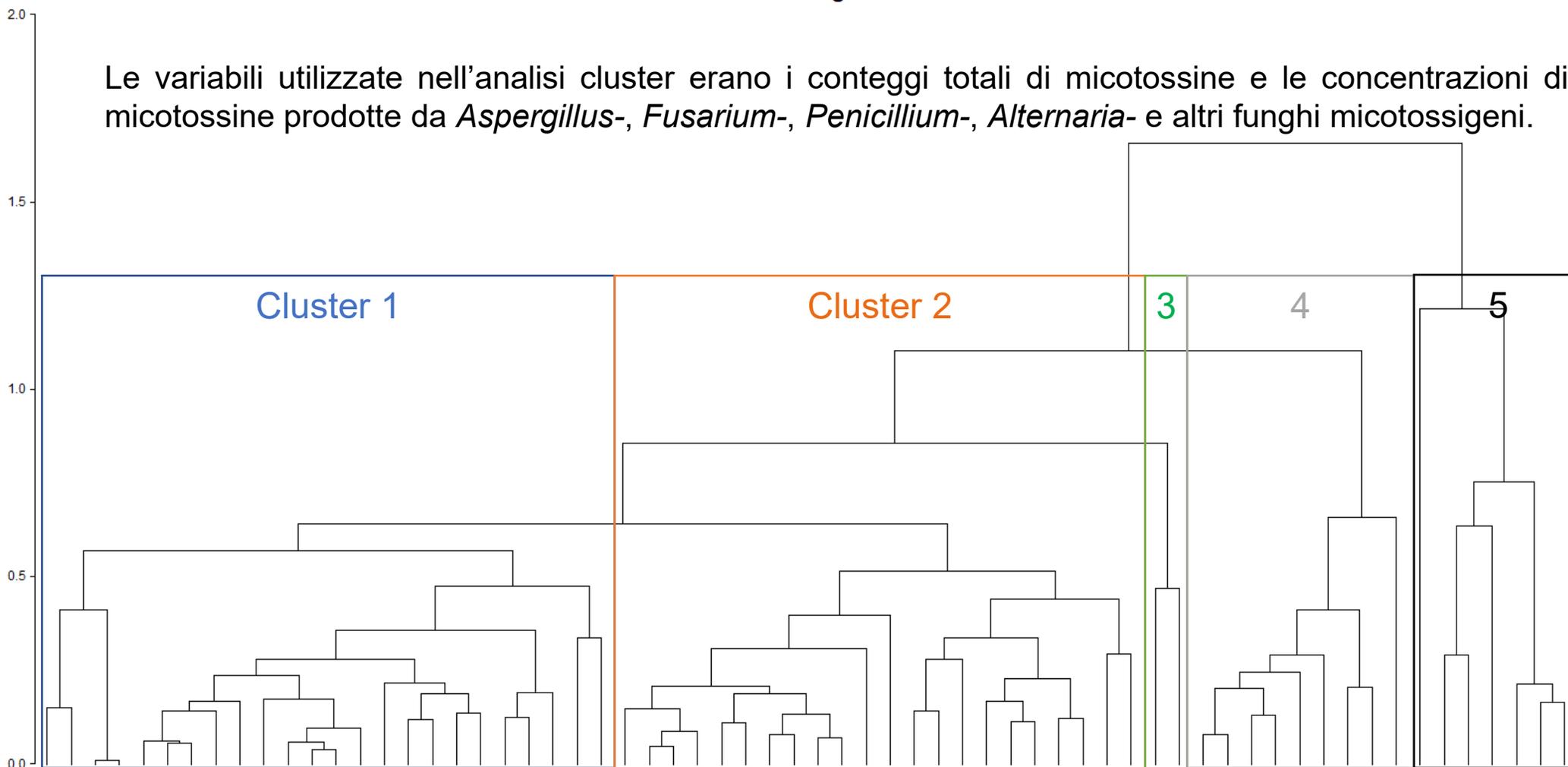
Co-presenza di micotossine regolamentate ed emergenti nell'insilato di mais: relazioni con la qualità della fermentazione e le comunità batteriche

Gallo et al. Toxins 2021, 13, 232



Cluster Silages

Le variabili utilizzate nell'analisi cluster erano i conteggi totali di micotossine e le concentrazioni di micotossine prodotte da *Aspergillus*-, *Fusarium*-, *Penicillium*-, *Alternaria*- e altri funghi micotossigeni.



Testo riportato da Gallo et al. (2021)

Co-presenza di micotossine regolamentate ed emergenti nell'insilato di mais: relazioni con la qualità di fermentazione e le comunità batteriche



Table 1. Counts (*n*) and sums (µg/kg dry matter or DM) of mycotoxins in corn silages belonging to different clusters.

Items	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4	Cluster 5	√MSE	<i>p</i> Value
	<i>n</i> = 24	<i>n</i> = 22	<i>n</i> = 2	<i>n</i> = 9	<i>n</i> = 7		
Counts of mycotoxins	24.7	23.5	42.5	25.4	32.7	5.93	<0.05
Aspergillus toxins	3.1	2.6	4.0	2.2	4.1	0.99	<0.05
Alternaria toxins	1.0	0.2	2.5	0.3	1.1	1.07	<0.05
Zearalenone and its metabolites	0.4	0.2	2.0	0.2	0.6	0.55	<0.05
Trichothecenes type B	0.8	0.7	1.5	1.0	0.9	0.56	0.256
Fumonisin and their metabolites	4.8	5.8	6.5	6.7	7.7	1.46	<0.05
Enniatins	0.8	0.3	3.5	0.2	1.0	1.18	<0.05
Beauvericin	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	0.24	0.133
Other Fusarium toxins	6.5	6.9	11.5	7.2	8.9	1.62	<0.05
Penicillium toxins	4.6	4.5	6.5	5.4	6.3	1.10	<0.05
Other fungi toxins	0.6	0.1	1.5	0.0	0.9	0.97	0.103
Unspecified fungi toxins	0.8	0.1	3.0	0.0	0.7	0.79	<0.05
Sums of mycotoxins							
Aspergillus toxins	147.0	84.5	565.2	70.3	186.7	104.04	<0.05
Alternaria toxins	5.8	4.4	18.7	29.6	18.7	32.67	0.308
Zearalenone and its metabolites	8.8	4.0	152.8	0.5	41.4	46.27	<0.05
Trichothecenes type B	28.8	15.4	192.6	33.5	57.6	41.67	<0.05
FB and their metabolites	215.4	339.1	475.3	473.5	1944.9	289.56	<0.05
Enniatins	0.6	0.3	3.1	0.5	5.7	4.46	0.075
Beauvericin	4.1	8.5	30.8	19.7	27.1	13.15	<0.05
Other Fusarium toxins	229.9	755.3	619.7	1564.8	675.1	172.65	<0.05
Penicillium toxins	154.6	91.6	708.2	87.3	142.2	107.34	<0.05
Other fungi toxins	1.1	0.1	4.3	0.0	4.0	2.85	0.013
Unspecified fungi toxins	17.8	1.8	102.0	0.0	26.0	23.51	<0.05

Etichetta dei cluster:

cluster 1 (*n* = 24, definito come insilati contaminati da bassi livelli di micotossine prodotte da *Aspergillus* e *Penicillium*)

cluster 2 (*n* = 22, definiti come insilati contaminati da bassi livelli di fumonisine e altre micotossine prodotte da *Fusarium*)

cluster 3 (*n* = 2, definiti come insilati contaminati da alti livelli di *Aspergillus*-micotossine)

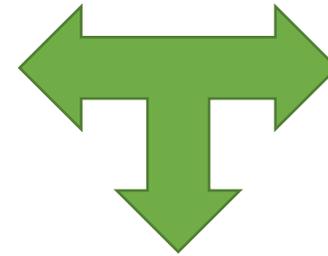
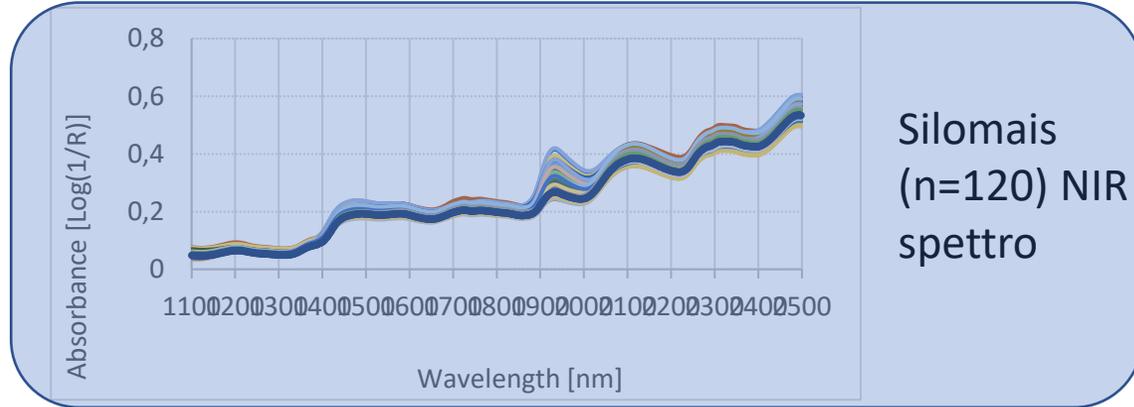
cluster 4 (*n* = 9, definito come insilati contaminati da alti livelli di micotossine prodotte da *Fusarium*)

cluster 5 (*n* = 7, definito come insilati contaminati da alti livelli di fumonisine e loro metaboliti)

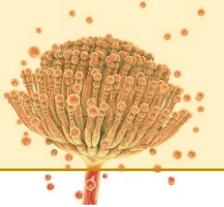
√MSE: root mean square error. When not detectable, the limit of detection of specific mycotoxins was used to compute statistical analysis.

A Preliminary Study to Classify Corn Silage for High or Low Mycotoxin Contamination by Using near Infrared Spectroscopy

Ghiardelli et al. *Toxins* 2022, 14, 323.



Contaminazione da
micotossine



Identificazione di cut-off per definire le classi di campioni in base al livello di contaminazione per concentrazione (cioè, $\mu\text{g}/\text{kg}$ di materia secca) o conteggio (cioè, n) di :

- **micotossine totali rilevabili;**
- **tossine di *Fusarium* regolamentate ed emergenti;**
- ***Fusarium*-tossine emergenti;**
- **Fumonisine e loro metaboliti;**
- **tossine di *Penicillium*.**

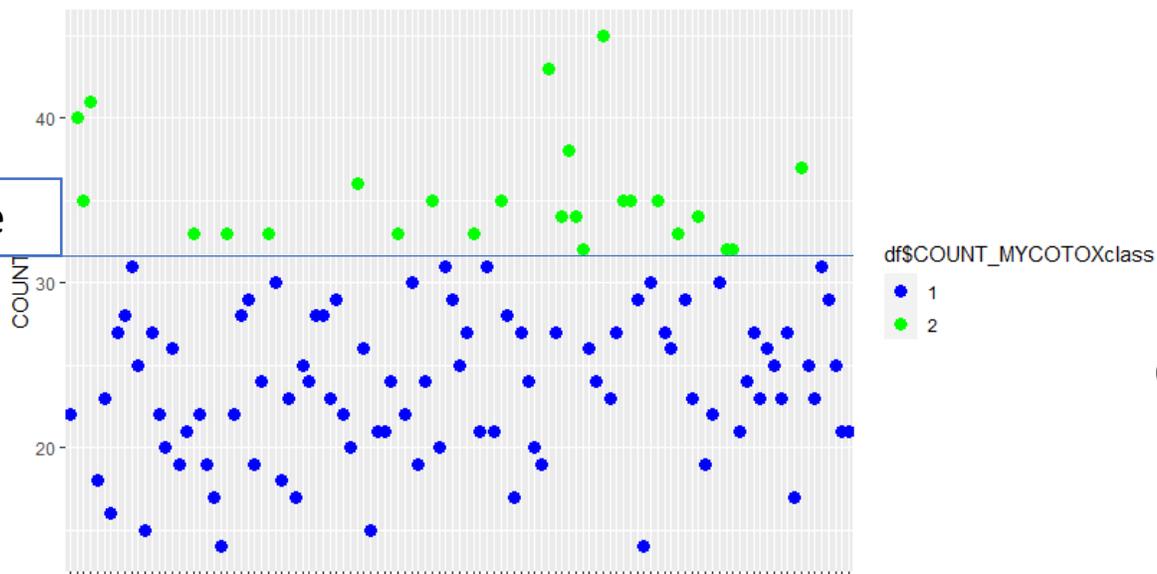


Algoritmo Synthetic Minority Over-sampling Technique (SMOTE) per ribilanciare le classi

Prospettive per le ricerche future nell'ambito del progetto SAFETY OF SILAGE

Applicazione della spettroscopia NIR per raggruppare insilati di mais (n=120)
a seconda del loro contenuto in micotossine

Calibrazione Random Forest



Predetti

		N1	N2	
Osservati	N1	97%	3%	29
	N2	0%	100%	29
		28	30	

Tab.1 Conteggio micotossine ricampionate, cut off 31

Relationship between contaminated corn silage and milk metabolomic profile

Rocchetti, G.; Ghilardelli, F.; Bonini, P.; Lucini, L.; Masoero, F.; Gallo, A. Changes of Milk Metabolomic Profiles Resulting from a Mycotoxins-Contaminated Corn Silage Intake by Dairy Cows. *Metabolites* 2021, 11, 475.



Article
Changes of Milk Metabolomic Profiles Resulting from a Mycotoxins-Contaminated Corn Silage Intake by Dairy Cows

Gabriele Rocchetti ^{1,2,*}, Francesca Ghilardelli ¹, Paolo Bonini ³, Luigi Lucini ², Francesco Masoero ¹ and Antonio Gallo ¹

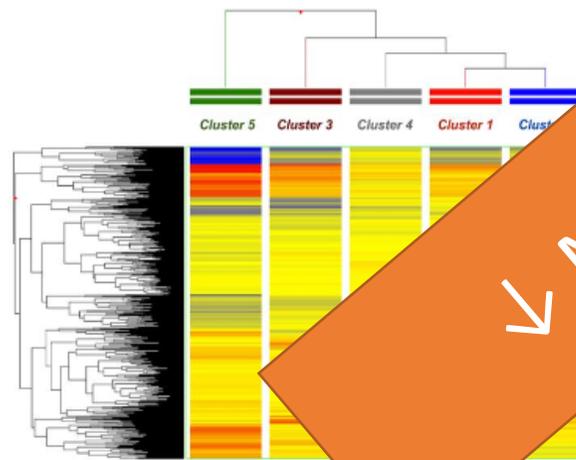


Figure 2. Unsupervised hierarchical clustering analysis considering the averaged milk metabolic profile outlined by the UHPLC-HRMS analysis.

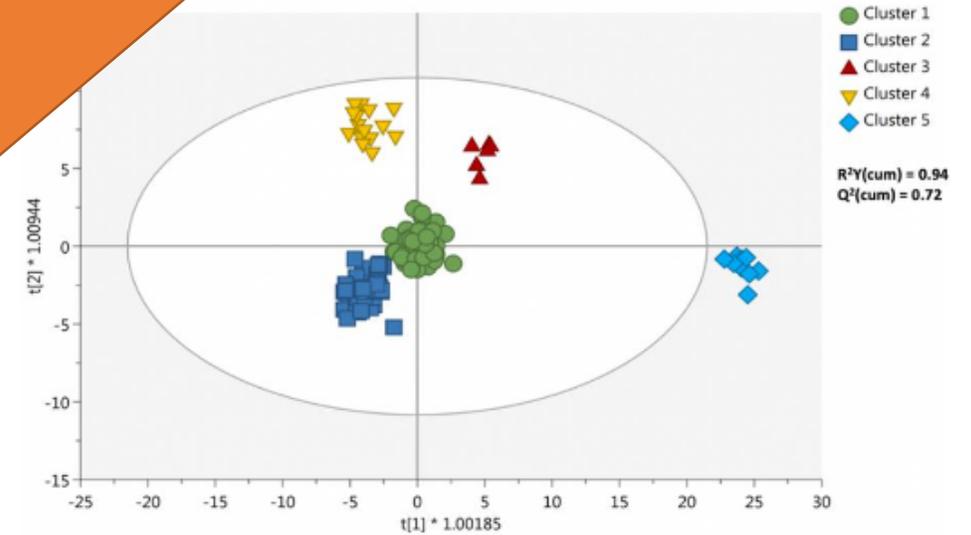


Figure 3. Orthogonal projection to latent structures (OPLS) discriminant analysis (DA) considering the cluster-type as class discrimination parameter.

45 campioni di latte sono stati classificati in cinque cluster in base al profilo di contaminazione da micotossine dell'insilato di mais collegato ai relativi campioni di latte.

↓ MicrobialCP ↓

L'ANALISI DEL PROFILO METABOLOMICO DEL LATTE HA EVIDENZIATO CORRELAZIONI TRA LA QUALITÀ DEGLI INSILATI DI MAIS CONTAMINATI CHE FACEVANO PARTE DELLA RAZIONE E LA COMPOSIZIONE DEL LATTE, CON LA PRESENZA DI METABOLITI QUALI AMINOACIDI E PEPTIDI, SEGUITI DA PURINE, PIRIMIDINE E CONIUGATI STEROIDEI.



Penicillium spp. Toxins Effects on animals

Mychopenolic acid

Roquefortine C

PR toxin???

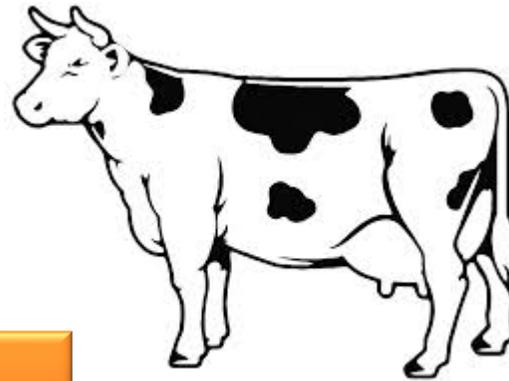
- Gastroenteritis
- Haemorrhagic intestine
- Reduces ruminal function and Intestinal Absorption
- Diarrhoea
- Ketosis

Tüller et al., 1998; Whitlow&Hagler, 2010;
Gallo et al., 2015

Roquefortine C???

- Locomotive problems

Hagblom et al., 1995



Mychopenolic acid

- Immunosopression

Dzidic et al., 2006

PR toxin, Penicillic acid, Marcfortines, Andrastins, PR-imine, PR-amide → No Info

Conclusioni

- Le micotossine sono ampiamente studiate negli animali, ma per i ruminanti abbiamo ancora **pochi dati** e ulteriori approfondimenti sono necessari
 - Ad esempio: effetto sul comportamento alimentare, digeribilità dieta o parametri di qualità del latte e caseificabilità
- Molte micotossine **regolamentate ed emergenti** possono contaminare gli alimenti, soprattutto negli **insilati e nei fasciati**, caratterizzati da una microflora complessa, a seconda della fase di insilamento
- In particolare, gli insilati possono essere contaminati da una moltitudine di tossine prodotte da ***Alternaria, Aspergillus, Penicillium*** e altre muffe. Tutte queste sono pericolose o possono essere usate come biomarcatori di sicurezza dell'insilato?
- Dovrebbero essere adottati protocolli comuni per testare gli effetti delle micotossine nei ruminanti
- Le persone coinvolte in questo ambito dovrebbero lavorare insieme per aumentare il livello di conoscenza

Grazie per la vostra attenzione



Prof. Antonio Gallo

antonio.gallo@unicatt.it

Dipartimento di scienze animali, della nutrizione e degli alimenti (DIANA)

Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali

Università Cattolica del Sacro Cuore

Piacenza