

# Modello specifico *in vivo* sugli anatroccoli per valutare la capacità captante sulle AFB1

*Le aflatossine, metaboliti secondari di diversi funghi (Aspergillus, Pennicillum e Fusarium), sono seriamente tossiche per gli animali e possono impattare sulle performance zootecniche. Al fine di studiarne gli effetti tossici, ma anche per valutare l'efficacia di prodotti contro le aflatossine, ADM ha sviluppato un modello in vivo specifico, rapido e riproducibile sugli anatroccoli.*

## Proprietà tossiche delle aflatossine

Le proprietà tossiche delle aflatossine variano a seconda della loro concentrazione, della specie animale, del tipo (finora ne sono state identificate 18) e della durata dell'esposizione. Comunemente, un'esposizione a periodi prolungati può facilitare la comparsa di tumori. Diversi studi hanno dimostrato che gli anatroccoli sono la specie più suscettibile all'esposizione acuta da aflatossine. L'LD<sub>50</sub> per un anatroccolo di 1 giorno è di 0,3mg/kg peso corporeo, comparato con i 6,3 mg/kg per i polli (DHANASEKARAN et al. 2011).

Si è cercato di evitare l'esposizione di animali ai mangimi contaminati da aflatossine, la metodologia più diffusa è sen'altro l'utilizzo di prodotti captanti. Come testimoniato da SCHEIDELER (1993), la capacità sequestrante di un additivo dovrebbe essere sempre dimostrata *in vivo*. In effetti, gli studi *in vitro* sono estremamente utili per effettuare un primo *screening*.

## Sviluppo del modello

Il modello, sviluppato da ADM, è specifico, riproducibile e basato sulla specie animale più sensibili alle micotossine: gli anatroccoli. Il modello consiste nella somministrazione di diversi tipi di additivi ad anatroccoli esposti alle micotossine. I parametri fisiologici e zootecnici di essi sono stati poi comparati con animali non esposti alle micotossine e ad animali esposti alle micotossine ma senza nessun trattamento.

Il modello è stato validato da 18 studi sugli effetti dei livelli delle contaminazioni da aflatossine sugli animali (673 anatre Pekin di un giorno media di durata della prova di 15.4 giorni, comparazione tra un mangime non contaminato con una dieta contaminata, media della variazione delle proteine plasmatiche nel gruppo non contaminato di 30.7 e di 22.2 nel gruppo contaminato – tra i 95 e i 100 ppb di aflatossina B1). Inoltre ci sono 24 studi sugli effetti dei captanti (2066 anatre Pekin di un giorno, durata media della prova 14 giorni, comparazione tra dieta di controllo e mangime contaminato con o senza captante). L'ultima prova effettuata nel 2018 è descritta nelle analisi di seguito.

## Materiali e metodi

Il gruppo controllo degli anatroccoli prevede una dieta standard in farina proveniente da materie prime non contaminate da aflatossine. Invece il gruppo sperimentale è stato alimentato con frumento contaminato con aflatossine sintetiche B1 (Sigma-Aldrich), le quali sono state miscelate con frumento, in modo da ottenere una contaminazione pari a 90 ppb.

320 anatroccoli maschi Pekin di un giorno di vita sono stati messi in 32 gabbie per testare 10 diverse diete, dettagliate in tabella 1 (32 anatroccoli per dieta e 3 ripetizioni per dieta), nutriti dal giorno 1 al giorno 15. Tutti i prodotti commerciali testati sono captanti a base di bentoniti.

**Tabella 1:** descrizione diete sperimentali

Diete	Dosaggio (kg/ton di mangime)	Aflatossina B1 (ppb nel mangime)	Ripetizione
A : Controllo non contaminato	-	-	3
B : Controllo contaminato	-	90	3
B + T5X	2	90	3
B + Prodotto commerciale 1 (CP1)	2	90	3
B + Prodotto commerciale 2 (CP2)	2	90	3
B + Prodotto commerciale 3 (CP3)	2	90	3
B + Prodotto commerciale 4 (CP4)	2	90	3
B + Prodotto commerciale 5 (CP5) - dose 1	0.5	90	3
B + Prodotto commerciale 5 (CP5) - dose 2	1	90	3
B + Prodotto commerciale 5 (CP5) - dose 3	2	90	3

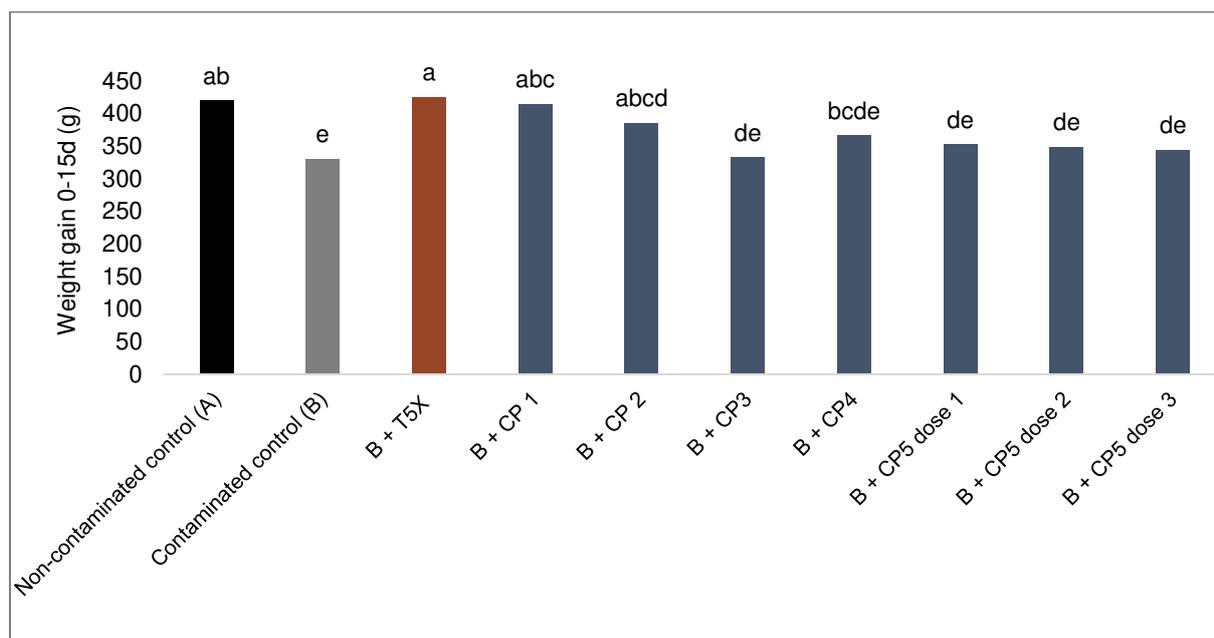
Gli animali sono stati pesati individualmente al giorno 0 e 15. È stata registrata anche l'ingestione media per ogni gabbia. Al giorno 15 sono stati macellati. È stato analizzato il livello di proteine plasmatiche, prese in considerazione come biomarcatore del modello. Gli animali macellati sono stati dissezionati al fine di valutare la colorazione del fegato.

## Risultati

- Aumento di peso

La fig. 1 evidenzia come la contaminazione ha avuto un effetto sulla crescita degli animali, il cui peso si è significativamente ridotto del 21.4% ( $p < 0.001$ ) per gli animali che sono stati alimentati con mangime contaminato (dieta B) rispetto al gruppo di controllo non contaminato (dieta A). tra i prodotti testati, T5X ha permesso una buona performance di crescita, non differente dalla crescita ottenuta dal gruppo non contaminato ( $p < 0.001$ ). Altri prodotti, al contrario, non hanno ottenuto i medesimi risultati.

**Figura 1:** aumento medio di peso nei diversi gruppi (0-15 giorni)



- Proteine plasmatiche

L'effetto negativo dell'intossicazione è chiaramente visibile nella riduzione del tasso di proteine plasmatiche: -55.1% di proteine plasmatiche nel lotto contaminato (dieta B) ( $p$ -valore $<0.001$ ). Anche se nessuno dei prodotti testati ha raggiunto i livelli del mangime non contaminato, T5X è riuscito ad aumentare sensibilmente il contenuto di proteine plasmatiche in comparazione al gruppo di controllo contaminato (+57%), come mostrato in tabella 2.

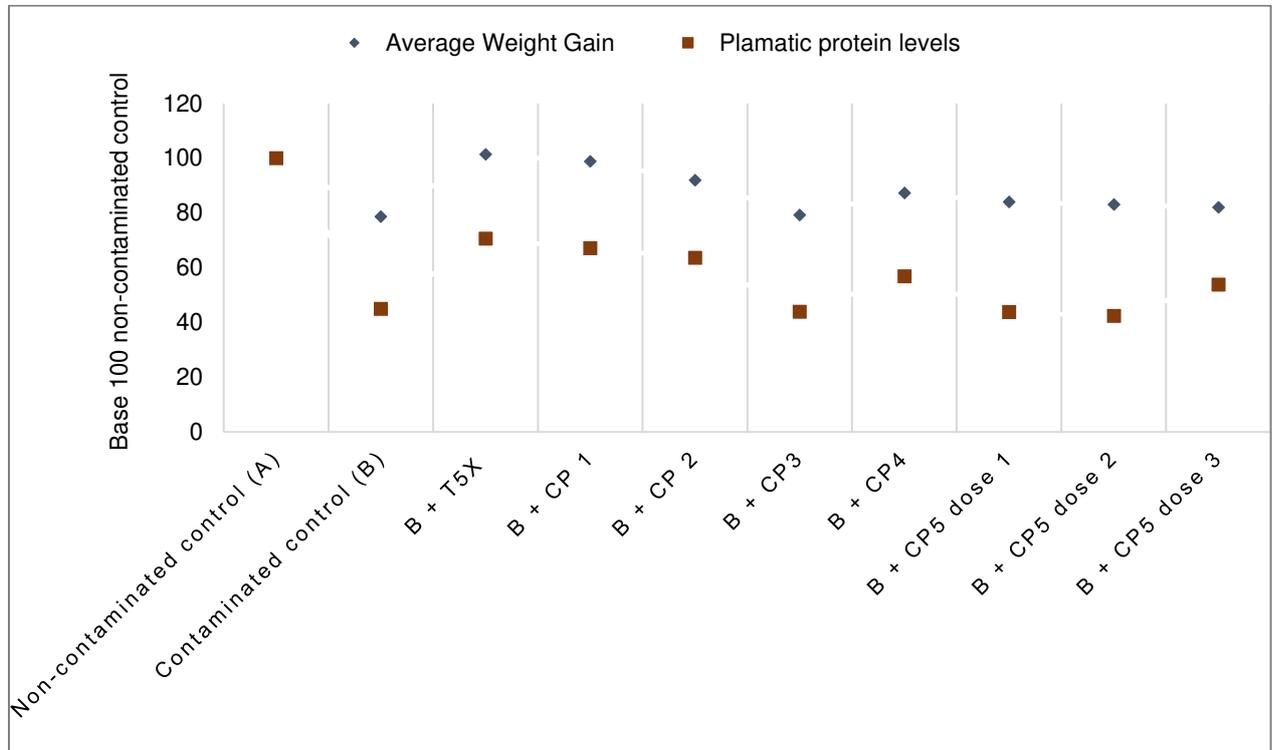
**Tabella 2:** proteine plasmatiche nei diversi gruppi al giorno 15.

Diete	Numero ripetizioni	Proteine totali (g/L)	Significance $P<0.001$
A : controllo non contaminato	30	27.33	a
B : Controllo contaminato	29	12.28	d
B + T5X	29	19.28	b
B + Prodotto commerciale 1 (CP1)	30	18.33	b
B + Prodotto commerciale 2 (CP2)	30	17.37	bc
B + Prodotto commerciale 3 (CP3)	28	12.00	d
B + Prodotto commerciale 4 (CP4)	24	15.54	c
B + Prodotto commerciale 5 (CP5) - dose 1	30	11.97	d
B + Prodotto commerciale 5 (CP5) - dose 2	30	11.57	d
B + Prodotto commerciale 5 (CP5) - dose 3	30	14.70	c

- Sintesi al giorno 15

T5X dimostra di permettere buone performance, sia in termini di crescita, e quindi di guadagno medio giornaliero, che di tasso di proteine plasmatiche (figura 2).

**Figura 2:** sintesi dei parametri di crescita e tasso di proteine plasmatiche



## Conclusioni

Il modello *in vivo* sugli anatroccoli, basato sulle modificazioni di parametri sia zootecnici che fisiologici, permette di valutare efficacemente l'impatto sugli animali della contaminazione da aflatosine B1, nonché di verificare l'efficacia di diversi captanti. Il modello richiede bassi livelli di tossine (dosi realistiche), pochi animali ed un tempo di esposizione limitato. È un modello riproducibile e permette di valutare l'efficacia di diversi captanti in maniera rapida ed economicamente sostenibile.