

IMPIEGO DEL LATTE D'ASINA DI RAZZA AMIATINA IN BAMBINI ALLERGICI E/O INTOLLERANTI: CARATTERIZZAZIONI NUTRIZIONALI E IGIENICO SANITARIE PER LA SICUREZZA ALIMENTARE

Dr. Franco Corrias

SINTESI

Impiego del latte d'asina di razza amiatina in bambini allergici e/o intolleranti: caratterizzazioni nutrizionali ed igienico sanitarie per la sicurezza alimentare.

Parole chiave: latte d'asina, igiene produzione, composizione chimico-fisica, prove microbiologiche

Il presente studio si è posto l'obiettivo di fornire elementi di caratterizzazione dei criteri igienico-sanitari e nutrizionali per l'utilizzo del latte d'asina come prodotto da destinare all'alimentazione umana, tali criteri riguardano tutta la filiera di produzione dalla impiantistica-strutturale, alla sanità degli animali fino ai requisiti igienici del latte.

Una serie di valutazioni preliminari svolte dalle varie U.O. hanno consentito di approfondire nel complesso le conoscenze relative al prodotto latte di asina (LA) sia dal punto di vista della produzione (allevamento, animali, mungitura...), tollerabilità e palatabilità nel corso della somministrazione, caratteristiche nutritive, parametri igienico sanitari nella fase di produzione, conservazione e trasporto e normativa al riguardo.

In Toscana è presente la razza autoctona Amiatina ed un recente progetto, realizzato con fondi del PSR 2007-2013 della Regione Toscana, ha permesso di creare una filiera produttiva innovativa per la produzione di latte d'asina, individuata e realizzata presso il Complesso Agricolo Forestale Regionale "Bandite di Scarlino" (Codice ASL 024GR106), partner del presente progetto, il cui ruolo è stato quello di fornire il latte necessario per lo svolgimento della ricerca e di mettere a disposizione la struttura ed il personale tecnico necessario allo svolgimento delle operazioni di mungitura e di campionamento. Presso tale azienda sono presenti circa 160 capi, allevati allo stato semi-brado, in paddock molto estesi, con alimentazione *ad libitum* a base di fieno e somministrazione di pellet commerciale concentrato limitatamente alla fase di raccolta delle asine in mungitura.

Il gruppo così costituito di asine in lattazione (30), omogeneo qualitativamente per età di lattazione e stato sanitario apparente è stato sottoposto mensilmente a mungitura e controllo clinico per la durata di 16 mesi. Sono stati eseguiti inoltre prelievi ematici, fecali e tamponi diagnostici delle vie genitali per le determinazioni dei parametri di sanità animale, di benessere e di valutazione generale (body condition score).

Le mungiture sono state bigiornaliere con mungitrice automatica previa separazione tre ore prima dei redi (mattutina e pomeridiana) e le principali analisi effettuate oltre alla quantità di latte prodotto sono state grasso, proteine, lattosio, caseine, punto di congelamento, residuo secco magro, ph e urea. Carica batterica totale e cellule somatiche sono state il principale valore preso in considerazione per la valutazione del processo produttivo, le analisi sono state condotte tramite Bactoscan FC e Fossomatic 5000.

Campioni di latte aggiuntivi, individuali e di massa sono stati inoltre prelevati per valutazioni di carattere qualitativo del latte e per ricerca di agenti mastidogeni. Le analisi sono state condotte secondo le procedure di laboratorio microbiologico accreditato e in accordo con il "Laboratory handbook on mastitis council" (National Mastitis Council, 1999). Altre analisi su campioni di latte hanno valutato la presenza di micotossine secondo le metodologie analitiche in uso presso i laboratori.

L'aflatossina M1 è uno dei principali metaboliti dell'aflatossina B1, si forma per azione delle cellule epatiche negli animali che ingeriscono aflatossina B1, per effetto della bio-trasformazione. Anche dopo la bio-trasformazione la molecola continua ad essere genotossica al pari di altri metaboliti neo formati. Secondo lo IARC (Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro di Lione) l'Aflatossina M1 va inserita nella classe "2B" di pericolosità, classe che comprende le molecole che potrebbero essere cancerogene per l'uomo.

Le analisi parassitologiche da campioni fecali sono state condotte entro le 24h dal prelievo (ampolla rettale e contenitori sterili) secondo metodologie correnti del laboratorio per la ricerca quali/quantitativa di enteroparassiti e parassiti respiratori.

I tamponi diagnostici cervicali sono stati effettuati prima dell'inizio della sperimentazione ed erano volti ad indagare la presenza (asintomatica) dei principali patogeni dell'apparato riproduttivo degli equidi. Le analisi sono state condotte secondo le procedure di laboratorio di diagnostica microbiologica accreditato e in accordo con quanto previsto dal manuale OIE.

I prelievi ematici dalla vena giugulare sono stati effettuati con vacutainer, conservati a +4°C e successivamente sierati per centrifugazione e congelati a -20°C per le successive analisi di natura infettiva e clinica. Oltre alla valutazione clinica mediante sopralluogo sono state effettuate determinazioni di emocromocitometrico con formula, parametri metabolici di funzionalità epatica e renale del metabolismo energetico in relazione all'alimentazione e ai fabbisogni produttivi.

Anche il latte è stato analizzato dal punto di vista nutrizionale e nutraceutico con approfondimento dei profili lattoproteici e lipidici.

Dal punto di vista clinico gli animali hanno evidenziato valori nei range dei parametri fisiologici degli asini. Non sono emerse positività sierologiche verso i principali patogeni degli asini né a carattere zoonosico, sia di natura virale che batterica. Dai tamponi cervicali è emersa una moderata prevalenza di *streptococcus equi zooepidemicus* e *klebsiella pneumonite* (9% e 6% rispettivamente), non evidenziate dal punto di vista clinico: la loro assenza nella ripetizione del controllo sembra rappresentare il dato della loro commensalità per il tratto genito urinario che solo in determinate condizioni di stress può aggravarsi con forme clinicamente manifeste.

Sono stati evidenziati parassiti intestinali e respiratori con prevalenza del 96% e 19% rispettivamente, non sono stati evidenziati parassiti epatici. Il numero medio di enteroparassiti era di 886 uova per g. di feci (*Strongiloides*), evidenziando la necessità di intraprendere un piano di controllo di tali parassitosi limitando il più possibile l'utilizzo di molecole farmaceutiche in animali destinati alla produzione. Importante notare che sia per i parassiti intestinali che per i respiratori non si sono evidenziate manifestazioni cliniche di rilievo.

Sono altresì risultate moderate le infezioni da mastidogeni, confermando la spiccata naturale attività antibatterica del LA: sono stati isolati da due individui *staphylococcus aureus* e *streptococcus equi zooepidemicus* con prevalenza del 3 e 6% rispettivamente.

Il valore della sostanza secca coincide con quanto risulta dalla bibliografia. Confrontando i valori qualitativi del latte di asina con quello umano si denota che il profilo proteico e il contenuto di lattosio del latte di asina sono più vicini ai valori del latte umano piuttosto che a quello bovino. Il minor tenore in proteina e caseine rispetto al latte bovino rendono il LA più adatto al consumo per le categorie di persone a rischio allergico e con problemi di digeribilità. In particolare il lattosio, maggiormente presente nel LA rispetto al latte bovino, conferisce una buona palatabilità del prodotto e stimola l'assorbimento del calcio a livello intestinale, contribuendo così a favorire l'utilizzo del LA anche in geriatria.

L'attività del lisozima registrata dal LA è molto simile a quella del latte umano e assai maggiore di quella del latte bovino, presente solo in tracce; ricordiamo che lisozima e lattoferrina sono i maggiori responsabili della attività antibatterica del latte. Le basse quantità di grasso e la morfometria delle molecole dei grassi rendono inoltre il LA importante anche per diete necessarie nell'obesità o per soggetti con problemi cardiovascolari. Le misure minori dei globuli di grasso di LA rispetto a quelli del latte bovino, rendono il primo maggiormente digeribile e con un apporto maggiore di elementi

bioattivi e acidi grassi polinsaturi. Il rapporto acidi grassi insaturi/saturi nel LA è più simile a quello umano rispetto a quello bovino.

Gli animali hanno dimostrato buone condizioni di salute, assenza di stati patologici evidenti e con un carico di parassiti da prendere in considerazione per evitare che un sovraccarico possa ridurre le produzioni. I processi produttivi non hanno evidenziato particolari criticità dal punto di vista igienico anche se l'isolamento preliminare di *staphylococcus aureus* rende fondamentale l'effettuazione di controlli per garantire il rispetto di quanto previsto dalla normativa vigente. Il LA è caratterizzato da un alto contenuto in lattosio, basso contenuto di grassi e proteine e da alti contenuti di acidi grassi insaturi. Gli acidi grassi insaturi e, in particolare, l'omega3 conferiscono al prodotto un beneficio sanitario tutto particolare per diete mirate per l'uomo in situazioni di intolleranza, allergia per il latte bovino, in situazioni di dislipidemia, prevenzione di malattie cardiovascolari, diete ipolipidemiche varie e in diete geriatriche calcioprive.

SUMMARY

Use of Amiata breed donkey milk in allergic and / or intolerant children: nutritional and sanitary characterization for food safety

Key words: donkey milk, hygienic production, physico-chemical composition, microbiological quality

The aim of this study was to provide elements of characterization of the sanitary and nutritional criteria for the use of donkey milk (DM) as a product for human consumption, these criteria concern the entire production chain from plant-structural, animal health up to the hygiene requirements of milk.

A series of preliminary evaluations carried out by the various Operating Units (U.O.) have allowed to better understand the DM product, from the point of view of production (breeding, animals, milking ...), tolerability and palatability at consumption, nutritional characteristics, sanitary parameters at production, conservation and transport phases and up to regulations.

In Tuscany there is the autochthonous Amiata breed and a recent project, realized with 2007-2013 funds from the Tuscany Region's PSR, has allowed the creation of an innovative production chain for the production of DM, located and implemented at the Regional Forestal Agricultural Complex "Bandite di Scarlino", a partner of this project that has been recognised according to EU Reg. 853/2004. At this farm there are about 160 donkeys, bred in very large paddocks in semi-wild state ad libitum hay fed and with a commercial concentrated pellet administration limited to the milking phase. The group consisting of lactating donkeys (30), was homogeneous by lactation age and apparent health status and was subjected to monthly milking and clinical controls for a period of 16 months. Blood and faecal samples and diagnostic swabs of the genital tract were also performed in order to determine animal health parameters, welfare and general assessment (body condition score). The automatic milkings were made twice daily three hours after separating the foals and the main measurements carried out on top of quantity of milk produced were fat, proteins, lactose, caseins, freezing point, lean dry residue, pH and urea. Total bacterial load and somatic cell counts were the main value considered for the evaluation of the production process; the measurements were conducted using Bactoscan FC and Fossomatic 5000.

Additional milk individual and mass samples were also taken for qualitative assessments of milk and for research of mastitis causative bacteria. The analyzes were conducted according to microbiological laboratory procedures and in agreement with the "Laboratory handbook on mastitis council" (National Mastitis Council, 1999). Other analyzes on milk samples have evaluated the presence of mycotoxins according to the analytical methods used in the laboratories.

The parasitological analyzes from faecal samples were carried out within 24h from the collection (rectal ampoule and sterile containers) according to current laboratory methods for the qualitative / quantitative research of enteroparasites and respiratory parasites.

Cervical swabs were performed before the start of the trial aiming to investigate the (asymptomatic) presence of the main pathogens of the equine reproductive system. The exams were carried out according to the accredited microbiological diagnostic laboratory procedures and in accordance with the OIE manual.

Blood samples from the jugular vein were made with vacutainer, stored at + 4 ° C and subsequently separated by centrifugation and frozen at -20° C. In addition to the clinical evaluation by inspections, measurements were made of haemochromocytometry with formula, metabolic parameters of hepatic and renal function and of energy metabolism in relation to diet and production needs.

The milk has also been analyzed from the nutritional and nutraceutical point of view, mainly for the content of the lactoprotein and lipid.

Clinically the animals have shown values in the ranges of physiological parameters of donkeys.

There was no serological positivity to the main pathogens of donkeys or zoonotic, both viral and bacterial.

A moderate prevalence of *streptococcus equi zooepidemicus* and *klebsiella pneumoniae* (9% and 6%, respectively) was evident from the cervical swabs. These pathogens were not shown clinically: it seems to represent the data of their commensality for the urinary tract that only under certain stress conditions can worsen with clinically evident forms.

Intestinal and respiratory parasites were found with a prevalence of 96% and 19% respectively, no hepatic parasites were detected. The average number of enteroparasites was 886 eggs per g. of feces (*Strongiloides*), highlighting the need to undertake a control plan of such parasites, limiting as much as possible the use of pharmaceutical molecules in production animals. It is important to note that both for intestinal and respiratory parasites there are no significant clinical manifestations.

Mastitis infections were also moderate, confirming the marked natural antibacterial activity of donkey milk: *staphylococcus aureus* and *streptococcus equi zooepidemicus* with a prevalence of 3 and 6%, respectively have been isolated from two individuals.

Dry matter value corresponds to bibliography data. The protein and the lactose content of donkey milk are closer to the values of human milk than to cattle. The lower content of proteins and caseins compared to cow's milk make the DM more suitable for consumption for the categories of allergic people and with problems of milk digestibility. The lactose is more present in DM than in cow's milk, it confers a good palatability of the product and stimulates the absorption of calcium in the intestine, this determines the geriatric use of DM.

The lysozyme activity characteristic of donkey milk is very similar to that of human milk and much higher than bovine milk (only a minimal presence); we recall that lysozyme and lactoferrin are the most responsible for the antibacterial activity of milk. The low amounts of fat and the morphometry of the fat molecules make donkey milk important also for diets needed in obesity or for people with cardiovascular problems. The smaller sizes of donkey milk fat globules compared to those of cow's milk, make the first more digestible and with a greater contribution of bioactive elements and polyunsaturated fatty acids. The ratio of unsaturated / saturated fatty acids in donkey milk is more similar to human than in cattle.

The animals have shown good health conditions and no evidence of pathological conditions. The load of parasites must be taken into consideration in order to avoid that an overload can reduce the production. The production processes have not highlighted any particular criticality from the hygienic point of view even if the sporadic and preliminary isolation of *Staphylococcus aureus* makes it

essential to carry out checks to ensure compliance with the provisions of current legislation. DM is characterized by a high lactose content, low fat and protein content and high content of unsaturated fatty acids. The unsaturated fatty acids and, in particular, omega3 give the product a particular health benefit for targeted diets for humans in situations of intolerance, allergy to cow's milk, in situations of dyslipidemia, in prevention of cardiovascular diseases, in hypolipidemic diets and in calcium-free geriatric diets.