

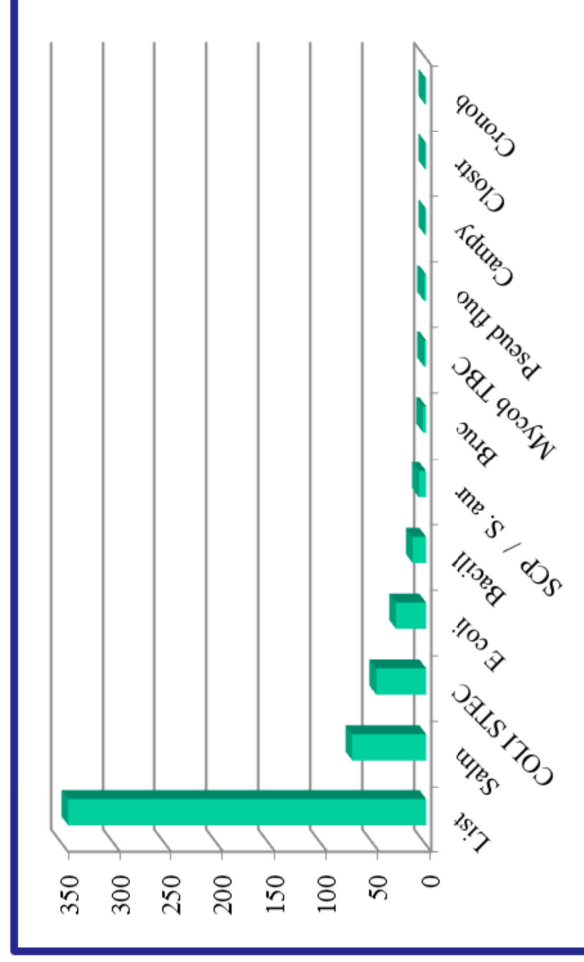
La sicurezza alimentare e la qualità del latte e dei derivati ovi-caprini:
le attività del Centro di Riferenza per la Qualità del Latte e dei prodotti
Derivati degli Ovini e dei Caprini(C.Re.L.D.O.C.C.)

Fosfatasi alcalina nel latte ovino e caprino



RASFF Portal

Search criteria
| Product category milk and milk products |
Hazard category pathogenic micro-organism



| | 2017 | 2016 | 2015 | 2014 | 2013 | 2012 |
|----------------------|------|------|------|------|------|------|
| <i>Listeria</i> | 15 | 15 | 30 | 29 | 19 | 20 |
| <i>Salm</i> | | 6 | 8 | 8 | 3 | 2 |
| <i>COLI STEC</i> | 7 | 10 | 8 | 12 | 2 | 3 |
| <i>E. coli</i> | | | 3 | 2 | 2 | 1 |
| <i>Bacill</i> | 1 | | 1 | 3 | 3 | |
| <i>Pseud fluo</i> | 1 | | | | 1 | |
| <i>SCP</i> | | 1 | | | | |
| <i>Clostr</i> | | 1 | | | | |
| <i>Mycob TBC</i> | | | | | | 1 |
| <i>Bruc</i> | | | | | | 1 |
| <i>OB da ET staf</i> | | | 1 | | | |
| <i>OB da Salm</i> | | | | | | 2 |
| <i>Cronob</i> | 1 | | | | | |

| 2012 /sett 2017 - prodotti al latte crudo | | | | | | |
|---|------|---------------|-------|---------------|-----|--------------------|
| | GOAT | paese prod | SHEEP | paese prod | COW | paese prod |
| Listeria | 4 | F | 10 | (9F 1S) | 9 | F |
| Salm | 2 | F | 3 | F | 3 | F |
| COLI STEC | 5 | F | 2 | F | 8 | (5F 1B 1IRL 1G) |
| E. coli | | | 1 | F | | |
| Bruc | | | | | 1 | F |
| totale | 11 | | 16 | | 21 | |

| 2012 sett 2017 | Alert su Prodotti ITALIANI | |
|-------------------|----------------------------|----------------------|
| Listeria | 33 | 24 gorgonzola |
| Salm | 1 | mozzarella di bufala |
| E. coli | 2 | mozz buf e burrata |
| Bacill | 1 | ricotta |



REGOLAMENTO (CE) n. 2074/2005 DELLA COMMISSIONE del 5 dicembre 2005

recante modalità di attuazione relative a taluni prodotti di cui al regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio e all'organizzazione di controlli ufficiali a norma dei regolamenti del Parlamento europeo e del Consiglio (CE) n. 854/2004 e (CE) n. 882/2004, deroga al regolamento (CE) n. 852/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio e modifica dei regolamenti (CE) n. 853/2004 e (CE) n. 854/2004

La **pastorizzazione** è ottenuta mediante un trattamento comportante:

i) una temperatura elevata durante un breve periodo

(almeno 72°C per 15 secondi);

ii) una temperatura moderata durante un lungo periodo

(almeno 63°C per 30 minuti); o

iii) ogni altra combinazione tempo-temperatura che permetta di ottenere un effetto equivalente, di modo che i prodotti diano, se del caso, una **reazione negativa al test di fosfatasi alcalina** immediatamente dopo aver subito tale trattamento



Regolamento (CE) n. 1664/2006 della Commissione, del 6 novembre 2006,
che modifica il **regolamento (CE) n. 2074/2005** per quanto riguarda le
misure di attuazione per taluni prodotti di origine animale destinati al
consumo umano e che abroga talune misure di attuazione

«Articolo 6 bis

Metodi di prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente
I metodi di analisi di cui all'allegato VI *bis* del presente regolamento sono
utilizzati dalle autorità competenti e, se del caso, dagli operatori del
settore alimentare per verificare la conformità ai limiti stabiliti
dall'allegato III, sezione IX, capitolo I, parte III, del regolamento (CE)
n. 853/2004 e **per garantire l'applicazione appropriata di un processo di
pastorizzazione** ai prodotti lattiero-caseari conformemente all'allegato III,
sezione IX, capitolo II, parte II, di detto regolamento.»;

... è inserito l'allegato VI *bis* conformemente all'allegato III del presente regolamento.





Il seguente allegato VI bis sui metodi di prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente è aggiunto al regolamento (CE) n. 2074/2005:

«ALLEGATO VI BIS

METODI DI PROVA RELATIVI AL LATTE CRUDO E AL LATTE TRATTATO TERMICAMENTE

CAPITOLO I

DETERMINAZIONE DELLA CONTA BATTERICA MICROBICA E CONTA DELLE CELLULE SOMATICHE

1.

Per la verifica dei criteri di cui all'allegato III, sezione IX, capitolo I, parte III, del regolamento (CE) n. 853/2004 vanno applicate come metodi di riferimento le seguenti norme:

a)

EN/ISO 4833 per la conta delle colonie a 30°C;

b)

ISO 13366-1 per la conta delle cellule somatiche.

2.

È accettabile l'impiego di metodi analitici alternativi:

a) per la conta delle colonie a 30°C, qualora i metodi siano convalidati in base al metodo di riferimento di cui al punto 1, lettera a), conformemente al protocollo stabilito dalla norma EN/ISO 16140 od ad altri protocolli simili riconosciuti a livello internazionale.

In particolare, il rapporto di conversione tra un metodo alternativo e il metodo di riferimento di cui al punto 1, lettera a), è stabilito conformemente alla norma ISO 21187;

b) per la conta delle cellule somatiche, qualora i metodi siano convalidati in base al metodo di riferimento di cui al punto 1, lettera b), conformemente al protocollo stabilito dalla norma ISO 8196, e impiegati conformemente alla norma ISO 13366-2 od altri protocolli simili riconosciuti a livello internazionale.



CAPITOLO II

DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITÀ DELLA FOSFATASI ALCALINA

1.

Per la determinazione dell'attività della fosfatasi alcalina è applicata come metodo di riferimento la norma ISO 11816-1.

2.

L'attività di fosfatasi alcalina è espressa in milliunità di attività enzimatica per litro (mU/l). Un'unità di attività della fosfatasi alcalina corrisponde alla quantità di enzima fosfatasi alcalina che catalizza la trasformazione di 1 micromole di substrato al minuto.

3.

Il risultato del test della fosfatasi alcalina è considerato negativo se l'attività misurata nel latte vaccino non è superiore a 350 mU/l.

4.

L'impiego di metodi analitici alternativi è accettabile qualora i metodi siano convalidati in base al metodo di riferimento di cui al punto 1, conformemente ai protocolli approvati a livello internazionale.»

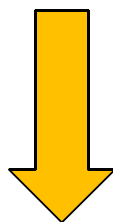




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



Costard S, Espejo L, Groenendaal H, Zagmutt FJ.
**Outbreak-Related Disease Burden Associated with Consumption of
Unpasteurized Cow's Milk and Cheese**, United States, 2009–2014. *Emerg Infect
Dis.* 2017;23(6):957-964. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2306.151603>



Raw milk and cheese cause 840 times more illnesses than pasteurized products

BY [HELEN BRANSWELL @HELENBRANSWELL](#)

MAY 9, 2017



Food Standards Australia New Zealand

MICROBIOLOGICAL RISK ASSESSMENT OF RAW MILK CHEESES (2009)

Raw goat milk

...international data indicate raw goat milk may contain *Aeromonas* spp., *Brucella* spp., *Campylobacter* spp., pathogenic *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Mycobacterium* spp., *S. aureus* and *Yersinia enterocolitica*. In Australian surveys, potential pathogens detected in raw goat milk have included *E. coli*, *L. monocytogenes*, and *Y. enterocolitica*. [...]

Campylobacter spp. have been isolated from raw goat milk with very low prevalence (0.04%) in the UK ... Western Australia has been the only state to detect *Campylobacter* spp. (during the period 2003 – 2006) in raw goat milk with 6 out of 113 samples (5.3%) testing positive.

The prevalence of *E. coli* (both generic and pathogenic) in raw goat milk has been cited as ranging between 0 - 16.3 % internationally...

An Italian study also reported the prevalence of *E. coli* O157:H7 at 1.7%.



L. monocytogenes was detected at levels up to 2.56% (Spain)...*Salmonella* spp., it is rarely detected...Prevalence of *S. aureus* contamination varies greatly with between 0 - 96.2% of international samples tested being found positive...**Coagulase positive *Staphylococcus* spp. have been detected in goat milk in all States of Australia except Queensland, with an overall contamination rate of 20.32%.**

Raw sheep milk

There is little data available on the prevalence of pathogens in raw sheep milk. International data suggests that prevalence of *S. aureus*, *Brucella* spp. and *E. coli* (EHEC) ranges from 7 – 33.3%, 14.2 - 46%, and 1 – 12.7% respectively. Surveys for *C. jejuni* and *Salmonella* failed to detect these organisms in sheep milk...





Risk Assessment of Human Listeriosis from Semisoft Cheeses Made from Raw Sheep's Milk in Lazio and Tuscany (Italy)

Roberto Condoleo,^{1,*} Ziad Mezher,¹ Selene Marozzi,¹ Antonella Guzzon,² Roberto Fischetti,¹ Matteo Senese,¹ Stefania Sette,³ and Luca Bucchini²

Semisoft cheese made from raw sheep's milk is traditionally and economically important in southern Europe. However, raw milk cheese is also a known vehicle of human listeriosis and contamination of sheep cheese with *Listeria monocytogenes* has been reported. In the present study, we have developed and applied a quantitative risk assessment model, based on available evidence and challenge testing, to estimate risk of invasive listeriosis due to consumption of an artisanal sheep cheese made with raw milk collected from a single flock in central Italy. In the model, contamination of milk may originate from the farm environment or from mastitic animals, with potential growth of the pathogen in bulk milk and during cheese ripening. Based on the 48-day challenge test of a local semisoft raw sheep's milk cheese we found limited growth only during the initial phase of ripening (24 hours) and no growth or limited decline during the following ripening period. In our simulation, in the baseline scenario, 2.2% of cheese servings are estimated to have at least 1 colony forming unit (CFU) per gram. Of these, 15.1% would be above the current E.U. limit of 100 CFU/g (5.2% would exceed 1,000 CFU/g). Risk of invasive listeriosis per random serving is estimated in the 10^{-12} range (mean) for healthy adults, and in the 10^{-10} range (mean) for vulnerable populations. When small flocks (10–36 animals) are combined with the presence of a sheep with undetected sub-clinical mastitis, risk of listeriosis increases and such flocks may represent a public health risk.

KEY WORDS: Food safety; listeriosis; quantitative microbiological risk assessment; raw milk cheese

1. INTRODUCTION

Raw milk, including sheep's milk, is extensively used in cheese manufacturing. Cheese made exclusively or mostly from raw sheep's milk is tradition-

ally produced in southern Europe (Greece, Portugal, Spain, and Italy), but also in Bulgaria, France, Romania, and in Turkey. In these countries, it is of significant economic importance, with, for example, 1.2 million tons of sheep's milk sold or used on farm in Greece in 2013, or with 65,000 tons of pure sheep's milk cheese produced in Italy's dairies in the same year.⁽¹⁾ Sheep's milk cheese sales were estimated to be worth approximately 500 M euro in 2013, in Italy alone.⁽²⁾ Some raw sheep's milk cheeses have been awarded protected status in the European Union under geographical indication schemes. Under these schemes, Italy has registered 19 partially or entirely sheep's milk cheeses, some of which

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Rome, Italy.

²Hylotates Consulting srl, Rome, Italy.

³Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, Centro di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, Rome, Italy.

*Address correspondence to Roberto Condoleo, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Via Appia Nuova 1411, 00178 Roma, Italy; roberto.condoleo@izslt.it.

Risk assessment of human listeriosis from semisoft cheeses made from raw sheep's milk in Lazio and Tuscany

Roberto Condoleo, Ziad Mezher, Selene Marozzi, Antonella Guzzon, Roberto Fischetti, Matteo Senese, Stefania Sette, Luca Bucchini

Risk Analysis, June 2016, doi:10.1111/risa.12649

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/risa.12649/abstract;jsessionid=519D74728E4A34E1CE300B856B99D54B.f04t04>



FOSFATASI ALCALINA (ALP)

(ai fini della sicurezza alimentare)

Adottata come parametro rapido per la verifica del processo di pastorizzazione, poiché è poco più resistente alla temperatura e al tempo richiesti per inattivare *Mycobacterium tuberculosis* e *Coxiella burneti*.

Utilizzata anche per svelare eventuali aggiunte non dichiarate di latte crudo al latte pastorizzato.



METODO DI RIFERIMENTO: norma ISO 11816-1
Determination of alkaline phosphatase activity Part 1:
Fluorimetric method for milk and milk-based drinks



The Fluorophos® ALP Test System

Determining safe alkaline phosphatase levels with speed and accuracy

The Fluorophos ALP Test
System takes phosphatase testing to its highest level by providing reliable results and eliminating subjective interpretation.



Studies prove its versatility when testing dairy products made from cow, goat, sheep, and other species.

The EU now requires that any other method considered for use be validated against the fluorimetric method and has lowered the statutory level for ALP in pasteurized milk from 500 to 350mU/L (ISO 11816-1).

With the Fluorophos ALP test, you can closely monitor your production processes and control product quality. The fastest pinholes and cracked seals in your HST system before they trigger pasteurization failures and workflow interruptions.

ADVANCED INSTRUMENTS, INC.
Two Technology Way / 781-320-5000
Norwood, Massachusetts 02062, USA
800-225-2034 Fax 781-320-6181
www.aicompanies.com

Greatest sensitivity

The Fluorophos ALP Test detects as little as 0.003% raw milk contamination, making it many times more sensitive than any other method. Fluorophos actually exceeds the FDA and EU ALP detection criteria.

Highest specificity

The Fluorophos' high level specificity eliminates false positives, and color or fat content variation in cheese and fluid products will not affect test results.

Globally proven

Laboratories around the world are using the Fluorophos ALP Test in conjunction with a Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) program. The Fluorophos has been extensively studied and approved by the AOAC, ISO/IDF, CEN European Standards, and NCIMS/FDA for confirming proper pasteurization.

Fastest test available

Test results automatically appear in 3 minutes on the digital display. With one system you can test both cheese and other dairy products made from fluid milk.

Reduced production liability

Documented reports indicate that improper pasteurization is still a public health concern, and in some cases has caused illness to consumers.

Altered milk quality in some cases was detected by the testing methods used. Because the Fluorophos ALP Test detects ultra low levels of raw milk contamination, it offers unmatched protection against the threat of pathogens in pasteurized milk.

*The fastest and
most sensitive test
for confirming pasteurization*



Fastest and easiest test available

The Fluorophos ALP Test System provides test results in just 3 minutes for confirmation of pasteurization. With just one reagent to prepare, and easy-to-follow display prompts, the Fluorophos eliminates user errors and ensures consistent results.



Running the Fluorophos ALP Test is fast and easy – simply add the milk sample to the substrate...



Then place the cassette in the Fluorophos instrument and push "Start". Your results will appear automatically in three minutes.

Available from:

12/2014 ALP

The Fluorophos® ALP Test System Specifications

| | |
|-----------------|--|
| Single sample | Auto-ranging, automatic zero |
| Range | 90° optical fixed filter |
| Optics | ±1 FLU (fluorescence unit) |
| Resolution | Less than 3 FLU/hour |
| Drift | RS-232C; 1200/2400/9600 baud |
| Communications | Lithium cell, 5 years |
| Memory backup | 100-130 V (60 Hz) or 210-250 V (50 Hz) |
| Power | 6" H x 16" W x 12" D (15 cm H x 40 cm W x 30 cm D) |
| Dimensions | Net weight: 25 lbs (11 kg) |
| Shipping weight | 35 lbs (16 kg) |
| Warranty | One year limited warranty on workmanship and parts. All electronic components and parts warranted by their makers. |
| Certifications | The management system conforms to the requirements of ISO 13485 registered. |



The Fluorophos ALP Test Specifications

| | |
|-------------------|--|
| Test time | 3 minutes |
| Sample size | 75 µL |
| Sensitivity | 0.003% raw milk |
| Between run CV | RSD, 3.8% |
| Reagent stability | 2 years from date of manufacture, refrigerated (Prior to reconstitution) |

Hot-Line® Technical Service

Advanced Instruments' Hot-Line Service and worldwide dealer network provides comprehensive customer service and technical support.

In the United States and Canada, call (800) 225-4034, Monday through Friday, 8:00am to 4:30pm (EST). After operating hours, dial x2191.

For more information on the Advanced Instruments family of tests, please call +1 (781) 320-5000 or email us at info@aicompanies.com.

Advanced Instruments, Inc. is

a leading supplier of instrumentation for clinical, pharmaceutical, biotechnology, microbiology and food laboratories around the world. Quality, reliability, service and support have been the company's guiding principles since our founding in 1955.

Our innovative application of technology helps healthcare organizations improve the quality of care and industrial companies enhance quality and productivity.



**ADVANCED
INSTRUMENTS, INC.**



350 mU/L

è il limite fissato per il latte bovino pastorizzato dal
Regolamento (CE) n. 1664/2006 della Commissione, che
modifica il regolamento (CE) n. 2074/2005

**NON E' PRESENTE UN LIMITE LEGISLATIVO PER IL LATTE
DELLE ALTRE SPECIE
(e nemmeno per il formaggio)**



- La fosfatasi alcalina è un enzima presente nei tessuti dei mammiferi e nel latte crudo
- è una fosfomonoesterasi che idrolizza gli esteri fosforici in ambiente basico (max della attività a pH 9,4)
- La defosforilazione della caseina avviene a pH 7
- È una metallo glicoproteina che ha bisogno dello Zinco e del Magnesio per svolgere al massimo la sua attività
- Approssimativamente il 30-40% del suo contenuto è presente nella membrana del globulo di grasso
- Nel latte scremato si trova legata alle lipoproteine
- La temperatura di conservazione del latte pastorizzato superiore a 30°C può determinare la **riattivazione della fosfatasi alcalina**



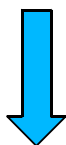
Fosfatasi microbica:

Tipo I si inattiva a temperatura di pastorizzazione

Tipo II NON si inattiva a temperatura di pastorizzazione

La struttura della fosfatasi microbica è simile a quella bovina.

I metodi oggi disponibili non distinguono tra le due forme di fosfatasi.



Il metodo prevede una pastorizzazione eseguita in laboratorio per comprendere se un valore elevato di fosfatasi in latte pastorizzato sia determinato dalla presenza di fosfatasi microbica resistente.



Fosfatasi alcalina nel latte Ovino e Caprino

Latte crudo (dati CRELDOC)

Media latte ovino: 3.670.000 mU/L

Media latte caprino: 253.000 mU/L

Varia in relazione alla specie, razza, periodo di lattazione, stato di salute ed età.

Cellule somatiche elevate comportano l'aumento della ALP

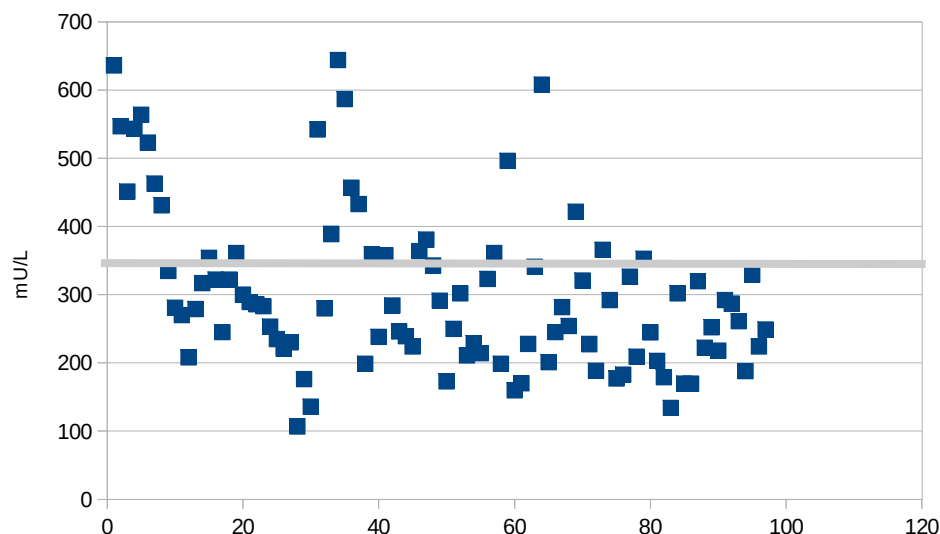




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



Latte ovino pastorizzato 63°C 30 minuti



Latte crudo (dati CReLDOC)

Media latte ovino: 3.670.000 mU/L

Media latte caprino: 253.000 mU/L

Campioni di latte pastorizzato individuali di
capra: media

Sarde $371,76 \pm 339,16$

Saanen $47,39 \pm 29,62$

(Scintu M.F. et al. 1998)

Campioni di latte di massa pastorizzato di
pecora: media

459 ± 124 480 ± 148

492 ± 121 534 ± 87

384 ± 47

(Scintu M.F. et al. 2001)



PROVA VALUTATIVA INTERLABORATORIO PER LA FOSFATASI ALCALINA NEL LATTE OVINO Febbraio 2016

| STRUMENTO | | | | | |
|-------------------|-------|---------------|----------|----------|----------|
| FLUOROPHOS | Lab.1 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| | | 178,8 | 488,7 | 1121 | 1649 |
| FLUOROPHOS | Lab.2 | 217,4 | 498,3 | 1054 | 1731 |
| | | 189,4 | 561,8 | 1376,8 | 2019,9 |
| FLUOROPHOS | Lab.3 | 183,0 | 570,5 | 1413,1 | 2059,9 |
| | | 126,0 | 433,0 | 1133,0 | 1489,0 |
| FLUOROPHOS | Lab.4 | 124,0 | 451,0 | 1104,0 | 1522,0 |
| | | 162,7 | 594,4 | 1422,8 | 1984,1 |
| FLUOROPHOS | Lab.5 | 164,6 | 610,9 | 1386,0 | 2143,1 |
| | | 173,9 | 549,8 | 1184,2 | 1839,7 |
| FLUOROPHOS | Lab.5 | 183,9 | 580,6 | 1304,2 | 1645,3 |
| | | Risultati KIT | | | |
| KIT (pos/neg) | Lab.6 | Negativo | Negativo | Positivo | Positivo |
| | | Negativo | Negativo | Positivo | Positivo |
| KIT (pos/neg) | Lab.7 | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| | | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| KIT (pos / neg) | Lab.8 | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| | | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



Progetto di ricerca corrente 2016:

**ATTIVITA' DELLA FOSFATASI ALCALINA
NEL LATTE DI PECORA, CAPRA E BUFALA
IN RELAZIONE AL TRATTAMENTO TERMICO DI PASTORIZZAZIONE:
STUDIO SPERIMENTALE
PER UN LIMITE DI CONFORMITA'**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana “M. Aleandri” –
(Sede di Roma – Sez. Latina – Sez. Grosseto)

**Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti Derivati degli Ovini
e dei Caprini**

Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell’Emilia – Sede di Brescia –
Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte Bovino

Istituto Zooprofilattico de Mezzogiorno – Sezione Diagnostica di Salerno –
**Centro di Referenza Nazionale sull’igiene e le tecnologie dell’allevamento e delle
produzioni bufaline**

Istituto Superiore della Sanità –
Laboratorio Nazionale di Riferimento per il latte e i prodotti a base di latte



ATTIVITA' PREVISTE

Determinazione dell'ALP
nel latte crudo durante l'arco della lattazione
(allevamenti diversi e diverse razze) –

Latte di massa aziendale

- Latte raccolto al caseificio

- Prove di pastorizzazione in laboratorio



ATTIVITA'

Confronto con pastorizzazioni industriali

Determinazione della fosfatasi alcalina su
campioni scremati (differenza con latte intero)

Cinetica di inattivazione durante il trattamento
termico

- Prove per valutare l'eventuale riattivazione





finito...

...grazie!

