

Studio dei parametri igienico-sanitari e delle caratteristiche reologiche del latte ovino, caprino e bufalino, finalizzate allo sviluppo di strumenti per il miglioramento della qualità delle produzioni casearie tradizionali

Carlo Boselli¹, Tiziana Galli¹, Sandra Gradassi¹, Gianluca Fichi¹, Roberto Condoleo¹, Alberto Brozzi¹, Agnese Cannas², Simone Dore², Massimo De Marchi³, Paola De Santis¹, Simonetta Amatiste¹, Gilberto Giangolini¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana "M. Aleandri" (C.Re.L.D.O.C.); ² Istituto Zooprofilattico della Sardegna (C.Re.N.M.O.C.);

³ Università degli Studi di Padova (AGRIPOLIS) DAFNAE

Nelle regioni Lazio e Toscana gli allevamenti delle specie ovine, caprine e bufaline rappresentano comparti economici importanti e le richieste dei consumatori e le norme europee sollecitano sempre di più i caseifici alla produzione di formaggi con migliori caratteristiche qualitative e di salubrità. Per il miglioramento dei prodotti caseari pastorizzati ed al latte crudo, sono state condotte **4 linee di ricerca** riguardanti aspetti sanitari, di sicurezza alimentare e tecnologici.

INTRODUZIONE

Diagnosi precoce di mastite subclinica negli ovini e nei bufalini

Milk Amyloid A (MAA) è una proteina prodotta direttamente dall'epitelio della mammella come risposta ad un'infezione batterica ed è quindi un indicatore immediato e diretto di infezione. E' stata studiata la possibilità di correlare la quantità di di Milk Amyloid A nel latte con la presenza di mastiti sub cliniche negli ovini e nei bufalini in modo da ottenere una diagnosi precoce.

Determinazione dell'attitudine casearia del latte mediante metodica automatizzata

L'attitudine casearia è la capacità del latte di reagire con un coagulante e di formare una cagliata di consistenza idonea entro i tempi ottimali per la lavorazione. E' stato realizzato un modello predittivo per la determinazione dell'attitudine alla caseificazione di latte bufalino, ovino e caprino mediante metodica automatizzata.

Valutazione del rischio di infezione da STEC (Shiga toxin-producing *E. coli*) attraverso il consumo di formaggi ovini

Gli STEC sono una sub-popolazione di *E. coli* in grado di causare gravi forme di gastroenterite e complicazioni anche mortali quando ingeriti dall'uomo attraverso prodotti contaminati. Vengono sporadicamente rilevati nel latte crudo e derivati, ottenuto da diverse specie domestiche. E' stato sviluppato un modello stocastico "from farm to fork" per stimare il rischio di infezione umana da O157 STEC associato al consumo di una porzione di formaggio di pecora al latte crudo prodotto in un caseificio aziendale in Italia.

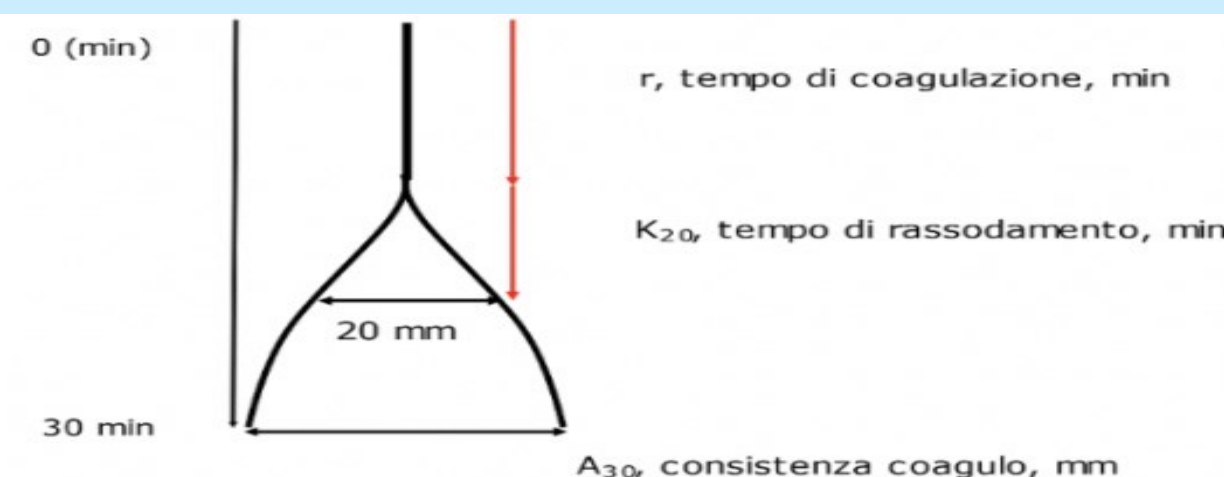
Studio microbiologico sulla presenza di *E. coli* e Stafilococchi coagulasi positivi (SCP) nel latte crudo e nei formaggi ovini, caprini e bufalini prodotti in caseifici aziendali

E. coli e Stafilococchi coagulasi positivi sono germi indicatori di igiene del processo di produzione degli alimenti. Il loro studio ha permesso di ottenere informazioni sulle realtà locali e dinamiche di contaminazione all'interno degli allevamenti.

MATERIALI & METODI

E' stata determinata la quantità di MAA mediante test ELISA kit Elisa "PHASE"TM Milk Amyloid A Mast (MAA) Assay su campioni di latte da singolo capezzolo (con esame batteriologico negativo per agenti mastidogeni)

Analizzati 7.556 campioni di latte di massa: 37,1% bufalini, 60,5% ovini e 2,4% caprini. Parametri lattodinamografici:
- tempo di coagulazione in minuti (RCT)
- tempo di rassodamento in minuti (k20)
- consistenza del coagulo in millimetri (a30).
Modello elaborato dal confronto fra lattodinamografo e Milkoscan (FTIR). (fig.1)



La simulazione prevedeva la raccolta del latte di massa da un solo allevamento annesso al caseificio aziendale e il suo utilizzo per la produzione di un'unica partita di formaggio. La variazione di prevalenza e concentrazione descritta attraverso tre moduli: (i) contaminazione durante la raccolta del latte a livello di allevamento, (ii) processo di caseificazione, (iii) consumo domestico (assunzione da parte del consumatore). I risultati sono stati ottenuti simulando 250.000 iterazioni con il software @Risk.

Campionamenti eseguiti in 15 caseifici: 6 con produzione di formaggi ovini (Roma, Viterbo e Latina); 4 con produzione di formaggi caprini e 5 con produzione di formaggi bufalini. Sono state monitorate 108 caseificazioni: 41 in caseifici ovini, 35 caprini e 32 bufalini. Sono stati prelevati 216 campioni: 108 di latte crudo e 108 di formaggio. Le determinazioni di *E. coli* e SCP sono state eseguite rispettivamente secondo ISO 16649-2:2001 e UNI EN ISO 6888-2:2004.

RISULTATI

Nei soggetti sani di razza Lacaune e Sarda il valore di MAA nel latte si attesta su valori molto bassi in media $3,84 \pm 2,97 \mu\text{g/ml}$, mentre nel latte di soggetti sani presenta un valore più alto ($23,98 \pm 36,19 \mu\text{g/ml}$). Nella bufala i valori sono inferiori (Tab. 1, 2).

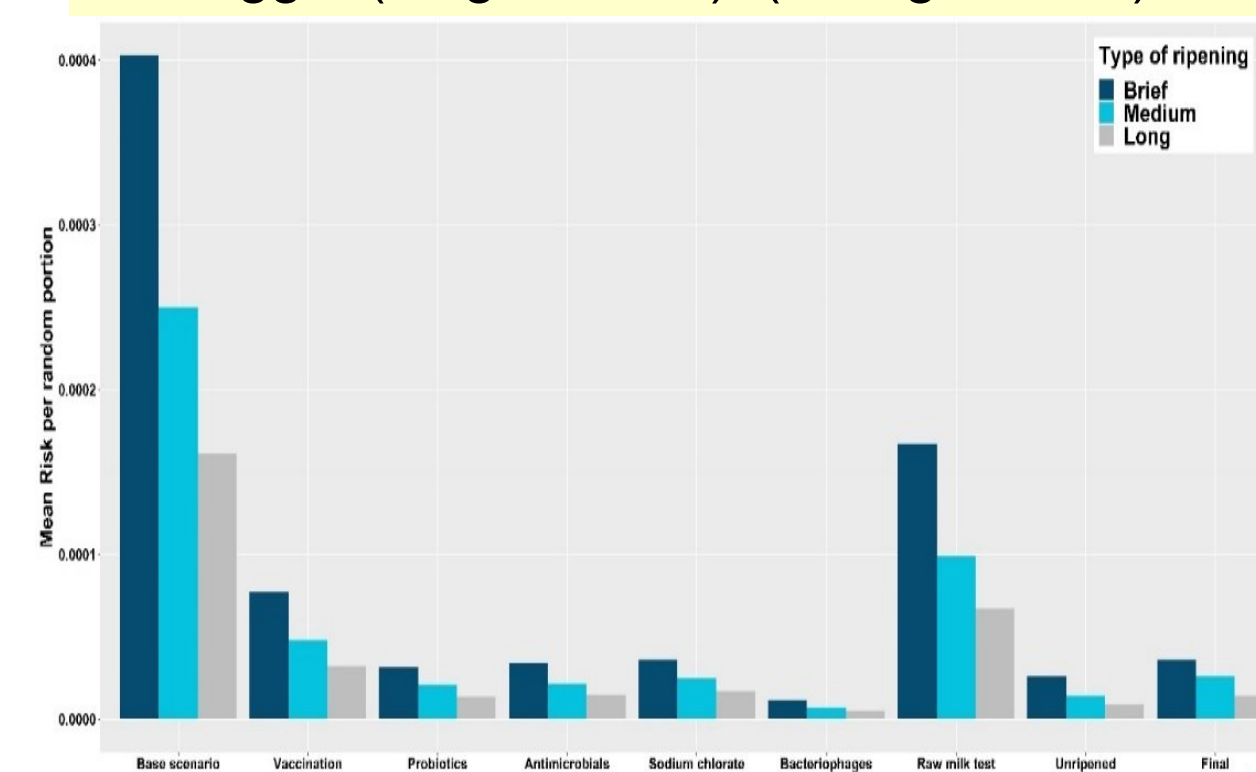
Tab 1. OVINI - Classe	Emimammelle	Media
Sana	n = 149	23,98
Mastite subclinica latente	n = 19	18,85
Mastite subclinica aspecifica	n = 100	79,83
Mastite subclinica specifica	n = 113	113,17

Tab 2. BUFALINI - Classe	Emimammelle	Media
Sana	n = 28	0,028
Mastite subclinica latente	n = 82	0,012
Mastite subclinica aspecifica	n = 37	0,032
Mastite subclinica specifica	n = 159	0,026

I valori medi dei parametri lattodinamografici, ottenuti con il metodo di riferimento per le specie studiate, sono risultati comparabili con quanto ottenuto in nostri precedenti studi e disponibili in letteratura (vedi tab. 3).

Tab 3. Matrice/Parametri	RCT - R ²	a30 - R ²
Latte ovino	0,495	0,159
Latte caprino	0,582	0,460
Latte bufalino	0,423	0,234

La simulazione ha stimato che il rischio medio di malattia dopo l'ingestione di una porzione di formaggio ovino crudo ottenuto da un caseificio aziendale variava tra $1,61 \times 10^{-4}$ e $4,03 \times 10^{-4}$ a seconda del tipo di formaggio (stagionatura), (vedi grafico 2).



Valori di *E. coli* nei formaggi ovini superiori al limite massimo previsto per i formaggi a latte pastorizzato nel 39% dei campioni, per i formaggi caprini nel 25,7% e per i formaggi bufalini nel 25% dei campioni prelevati.

Il limite minimo previsto dal Reg. CE 2073 per SCP per i formaggi a latte crudo è stato superato in 9,8% dei campioni di formaggio ovino e 5,7% dei campioni di formaggio caprino, nessun campione per i formaggi bufalini.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

MAA può considerarsi un indicatore molto sensibile per le mastiti subcliniche poiché si accumula nel latte solo durante l'infiammazione mammaria. Nella bufala, il test ELISA della MAA non è attendibile a causa della bassa concentrazione di MAA nel latte rispetto alle altre due specie.

Il parametro di coagulazione del latte RCT, mostra una predizione di screening accettabile in tutte le specie studiate, mentre il parametro a30 evidenzia risultati ancora poco soddisfacenti.

Il rischio sembra meritare considerazione ma è probabilmente sovrastimato a causa della mancanza di dati. Azioni di controllo in fase primaria hanno maggiore impatto rispetto a controlli in caseificio.

I valori riscontrati di *E. coli* e SCP non evidenziano particolari livelli di contaminazione sia nel latte crudo sia nel formaggio analizzato. L'aumento della contaminazione riscontrata dal latte al formaggio è riconducibile anche alle non idonee operazioni di pulizia e sanificazione delle attrezzature.

Research Products: 1) Condoleo R, Palumbo R, Mezher Z, Bucchini L, Taylor R A- (2022) *Microbial Risk Assessment of Escherichia coli shiga-toxin producers (STEC) in Raw Sheep's Milk Cheeses in Italy*. Food Control 137 2) - Manuelian, C.L.; Penasa, M.; Giangolini, G.; Boselli, C.; Currò, S.; De Marchi, M. *Fourier-transformed-infrared spectroscopy to predict coagulation and acidity traits of sheep bulk milk*. J. Dairy Sci. 2019, 102, 3) - Manuelian C.L., Boselli C, Vigolo V, Giangolini G, De Marchi M. *Effects of animal versus vegetal rennet on milk coagulation traits in Mediterranean buffalo bulk milk*. J Dairy Sci. (2020). 4) - Liburdi, K.; Boselli, C.; Giangolini, G.; Amatiste, S.; Esti, M. *An Evaluation of the Clotting Properties of Three Plant Rennets in the Milks of Different Animal Species*. Foods 2019, 8, 600.