

SINTESI

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.

Nelle regioni Lazio e Toscana gli allevamenti delle specie ovine, caprine e bufaline rappresentano comparti economici importanti, in termini di numero di capi, produzione di latte e tipologia dei prodotti caseari. Le richieste dei consumatori e le norme europee (Reg. CE 853/2004 – Reg. CE 1441/2007) sollecitano sempre di più i caseifici alla produzione di formaggi con migliori caratteristiche qualitative e di salubrità. In particolare è necessario monitorare la produzione di formaggi a latte crudo, apprezzati per le loro caratteristiche organolettiche e di sapore.

Lo studio ha quindi riguardato diversi aspetti, concernenti la qualità del latte e dei formaggi:

- 1) Studio sull'applicabilità della determinazione di MAA nel latte per la diagnosi di mastite subclinica negli ovini e nei bufalini.
- 2) Messa a punto di un modello predittivo per la determinazione dell'attitudine casearia del latte mediante metodica automatizzata.
- 3) Caratterizzazione del rischio per un modello di valutazione qualitativa del rischio microbiologico delle produzioni locali a filiera corta ovi-caprina per STEC (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*).
- 4) 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.

Milk Amyloid A: è stata studiata la possibile applicazione della proteina Milk Amyloid A per la diagnosi precoce di mastiti sub cliniche 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.

Sono stati prelevati campioni di singolo capezzolo nel corso della lattazione. Su tali campioni è stato eseguito l'esame batteriologico per individuare l'eventuale presenza di germi mastidogeni e determinato il numero delle cellule somatiche tramite apparecchiatura a cella di flusso. Contemporaneamente è stata determinata la quantità di MAA mediante test ELISA (kit Elisa "PHASE"™ Milk Amyloid A Mast (MAA) Assay). La differenza statistica evidenziata tra i valori di MAA in emimammelle sane rispetto a emimammelle con mastite subclinica aspecifica e specifica permettono di considerare il cutoff ottenuto di 27,36 µg/ml, come un primo valore attendibile per distinguere l'emimammella sana da quella affetta da mastite subclinica. Il cut off ottenuto è superiore a quello presente in letteratura per il latte bovino: da 1 µg/ml a 13.43µg/ml a seconda dello studio effettuato con specificità e sensibilità variabili (Kovack et al., 2011; Sorensen et al. 2002). La MAA risulterebbe comunque anche nella specie ovina un buon indicatore per evidenziare le mastiti subcliniche.

Pochi sono gli studi effettuati sul MAA nel bufalo utilizzando il kit Elisa "PHASE"™ Milk Amyloid A Mast (MAA) Assay; in questi studi i valori evidenziati per la MAA nel latte bufalino risultavano inferiori rispetto al latte della specie bovina. Nello studio da noi effettuato su latte di quarto di 172 animali emerge invece che il test ELISA della MAA non sarebbe attendibile nella specie bufalina a causa del valore troppo basso di MAA nel latte rispetto alle specie bovina e ovina, con frequenti risultati sotto la soglia di rilevazione del kit, come confermato dall'alto numero di campioni con valori inferiori a 0 riscontrato durante lo studio (48.05%).

Attitudine alla caseificazione: è stato eseguito uno studio per la messa a punto di un modello predittivo per la determinazione dell'attitudine alla caseificazione mediante metodica automatizzata. Sono stati determinati i seguenti parametri lattodinamografici: tempo di coagulazione espresso in minuti (RCT), tempo di rassodamento espresso in minuti (k20) e consistenza del coagulo espressa in millimetri (a30). La realizzazione del modello per la determinazione dell'attitudine alla caseificazione per il latte ovino, caprino e bufalino è stato elaborato mediante il confronto con il

metodo diretto eseguito tramite lattodinamografo. I campioni di latte di massa/individuali prelevati sono stati analizzati per i diversi parametri qualitativi del latte mediante apparecchiatura automatica all'infrarosso. Per ogni campione sono stati memorizzati gli spettri dell'infrarosso ed elaborati tramite programmi statistici specifici.

Di seguito si espongono i risultati dei modelli ottenuti per il parametro RCT e a30. Per il parametro k20 i valori di R² non permettono allo stato attuale una utilizzazione pratica.

Matrice	RCT – R ²	Bassa	Media	Alta
Latte ovino	0,495	<12,26	12,26 - 19,00	>19,00
Latte caprino	0,582	< 6,00	6,00 - 10,30	>10,30
Latte bufalino	0,423	< 11,00	11,00 - 17,45	>17,45
Matrice	a30 – R ²	Bassa	Media	Alta
Latte ovino	0,159	<47,82	47,82 - 70,00	>70,00
Latte caprino	0,460	<31,08	31,08 - 49,11	>49,11
Latte bufalino	0,234	<42,41	42,41 - 55,50	>55,50

E' necessario proseguire gli studi implementando il data-set al fine di migliorare la predizione in particolare per il parametro a30.

Caratterizzazione del rischio per STEC: uno dei pericoli emergenti è la presenza di STEC nei formaggi a latte crudo. E' stata eseguita quindi una valutazione quantitativa del rischio di trasmissione degli STEC legata al consumo di formaggi ovi-caprini a latte crudo prodotti nei caseifici aziendali distribuiti nella regione Lazio. Sulla base delle linee guida del Codex Alimentarius, è 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. La simulazione ha stimato che il rischio medio di malattia dopo l'ingestione di una porzione di formaggio di pecora crudo proveniente da un caseificio di fattoria variava tra $1,61 \times 10^{-4}$ e $4,03 \times 10^{-4}$ per gli adulti e tra $1,35 \times 10^{-4}$ e $3,34 \times 10^{-4}$ per i bambini, a seconda del tipo di formaggio. Sia per gli adulti che per i bambini, il rischio associato al consumo di formaggi a breve stagionatura è stato superiore a quello dei formaggi a media (+61%) e a lunga stagionatura (+151%).

Quando il formaggio viene prodotto utilizzando il latte di un allevamento in cui circola un ceppo STEC O157, il rischio medio aumenta di circa 11 volte per tutti i tipi di formaggio raggiungendo il valore di $4,42 \times 10^{-3}$. Il rischio medio per un bambino di sviluppare una Haemolytic Uremic Syndrome (HUS) dopo aver mangiato una porzione di formaggio, varia tra $1,40 \times 10^{-5}$ (formaggio a lunga stagionatura) e $3,47 \times 10^{-5}$ (formaggio a breve stagionatura). Il rischio mediano calcolato considerando solo le porzioni contaminate variava tra 0,018 (scenario test formaggio non stagionato) e 0,072 (tutti i tipi di formaggio). Tuttavia, è da evidenziare che la sola considerazione delle porzioni contaminate per calcolare il rischio mediano non tiene conto della prevalenza delle porzioni contaminate. L'esecuzione dell'analisi di sensibilità ha evidenziato che i cambiamenti nella prevalenza di O157 STEC negli allevamenti di pecore e la probabilità di contaminazione da *E. coli* nel latte crudo hanno il maggiore impatto sul rischio a seguito del consumo di una porzione di formaggio di pecora crudo.

Presenza di *E. coli* e Stafilococchi coagulasi positivi nel latte crudo e nei formaggi: è stato eseguito un monitoraggio sulla presenza di Stafilococchi coagulasi positivi (SCP) ed *E. coli* nel latte e nei formaggi a latte crudo al fine di fornire strumenti operativi da suggerire ai caseifici per il miglioramento della qualità microbiologica dei prodotti. A tale scopo sono stati prelevati in 15 caseifici (6 ovis, 4 caprini e 5 bufalini) 108 campioni di latte crudo e 108 di relativo formaggio su cui sono stati determinati *E. coli* ed SCP.

Il Reg. CE 2073 non prevede limiti per *E. coli* nei formaggi a latte crudo ma solo per i formaggi ottenuti da latte trattato termicamente. I valori di *E. coli* riscontrati in questo studio nei formaggi hanno evidenziato valori superiori al limite massimo previsto per i formaggi a latte pastorizzato (1000 ufc/g) nel 39% dei formaggi ovis, nel 25,7% dei formaggi caprini e nel 25% dei formaggi bufalini.

Per quanto riguarda SCP, il limite minimo previsto dal Reg. CE 2073 e s.m.i. per i formaggi a latte crudo è di 10.000 ufc/g. Ha superato questo limite il 9,8% dei campioni di formaggio ovino, il 5,7% dei campioni di formaggio caprino e nessun campione per i formaggi bufalini. Solo un campione di formaggio ovino ha superato il limite massimo previsto per SCP di 100.000 ufc/g.

I valori riscontrati per *E.coli* e Staf. Coagulasi positivi (SCP) non evidenziano complessivamente particolari livelli di contaminazione nel latte crudo e nel formaggio analizzato.

Parole chiave: STEC, attitudine alla caseificazione, Milk Amiloyd A.