

FORMAGGIO DI MALGA TRENINO: ECOLOGIA MICROBICA DI UN FORMAGGIO FERMENTATO SPONTANEAMENTE

Elena FRANCIOSI^{1*}, Iliara CARAFA¹, Silvia SCHIAVON², Francesco GUBERT², Kieran TUOHY¹, Angelo PECILE².....83-90

* Corrispondenza ed estratti: elena.franciosi@fmach.it

¹ Gruppo Nutrizione e Nutrigenomica, Dipartimento Qualità alimentare e Nutrizione, CRI, Fondazione Edmund Mach - Istituto Agrario San Michele all'Adige

² Gruppo risorse zootecniche e foraggiere, Dipartimento Consulenza e Servizi per le Imprese, CTT, Fondazione Edmund Mach - Istituto Agrario San Michele all'Adige

RIASSUNTO - Il formaggio di Malga è uno dei prodotti più tipici della provincia trentina, ottenuto da latte crudo vaccino, esclusivamente nel periodo estivo, in malghe situate tra 1000 e 2000 m sul livello del mare. La malga è un sistema chiuso in cui le vacche pascolano, il latte viene prodotto e lavorato, il tutto nello stesso ambiente. Il latte viene processato a crudo esente da ogni tipo di addizione di starter. Le fermentazioni quindi che si instaurano sono del tutto spontanee. L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di caratterizzare i batteri lattici (LAB) autoctoni nelle prime fasi di produzione del formaggio di Malga e durante la stagionatura, in modo da correlare la microflora ai parametri tecnologici e le caratteristiche sensoriali. La produzione del formaggio è stata seguita per circa 30 giornate e sono stati prelevati campioni di latte di caldaia, cagliata, formaggio ad un giorno, un mese e sette mesi di stagionatura. È stata effettuata la conta di diversi generi microbici su terreni selettivi (PCA, M17, MRS, VRBA e KEA) incubati nelle condizioni ottimali. Tra i 614 ceppi isolati, 431 LAB sono stati caratterizzati genotipicamente combinando Randomly Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain Reaction (RAPD-PCR), PCR specie-specifiche e sequenziamento parziale del gene 16S rRNA. La microflora dominante del latte risultava essere eterogenea e costituita da specie lattiche mesofile e non-lattiche psicrotrofe. Nel formaggio, già dopo il primo giorno, i batteri lattici diventavano dominanti: i mesofili di forma coccica, identificati come *Lactococcus lactis*, predominavano fino al primo mese di stagionatura. Sono stati trovati anche *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus thermophilus*. La carica delle popolazioni batteriche non lattiche dal primo giorno fino ai sette mesi di maturazione è diminuita in concomitanza con la diminuzione del pH. Dopo 7 mesi di stagionatura la microflora del formaggio era costituita da batteri lattici appartenenti principalmente alle specie *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Pediococcus pentosaceus*.

Parole chiave: latte, formaggio di malga, microflora, starter, non-starter

SUMMARY - Microbial ecology of Malga cheese from Trentino as a case of spontaneously fermented cheese - The province of Trento counts approximately 100 cheese-producing malgas. Over the last years, malga cheese-makers have progressively introduced the use of industrial freeze-dried starter cultures in order to steer fermentation in the first hours after production and so reduce the risk of pathogenic microbial proliferations and technological defects in the cheese. However, the spread of industrial, non-autochthonous microbial stems in these traditional production processes is leading to an ongoing flattening of the organoleptic traits of malga cheese, resulting in loss of biodiversity and product tipicity. Starting from the assumption that self-produced starter cultures from milk and whey are not always a reliable option on malgas due to difficult in setting operational conditions, the FERMALGA project aims at providing malga cheese-makers with autochthonous freeze-dried starter cultures isolated and selected from the local microbial pool occurring on traditional malgas as an alternative to commercial starters. The autochthonous microbial pool has been collected by FEM during summer 2011 on 8 different malgas. Sampling occurred on 36 days and was performed on milk, curdle right after production, cheese after 1 day, 1 month and 7 months ripening. A total of 614 strains were isolated from the curdle and the cheese after one day, for starter selection and from cheese after 7 months ripening for non-starter selection. The lactic acid bacteria (LAB) were 431: 263 mesophylics and 168 termophylics. All bacterial isolates were clustered by Randomly Amplified Polymorphic DNA Polymerase Chain Reaction (RAPD-PCR) using two primers and identified by partial sequencing of 16S rRNA gene and species-specific PCR. From the 431 isolates, we obtained 268 biotypes that were tested for their technological properties. The non-putative starter strains belonged mainly to *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* and *Enterococcus faecium* or *faecalis* species. The nonstarter strains belonged mainly to *Lactobacillus rhamnosus*, *Lb. paracasei/casei*, and *Pediococcus pentosaceus* species. The development of autochthonous starter and non-starter cultures selected on the basis of technological tests would ensure the dominance of desired strains in the first hours and during the overall ripening process minimizing growth of not desired spoilage bacteria.

Keywords: milk, malga cheese, microflora, starter, non-starter

COLORAZIONI ANOMALE DEL FORMAGGIO FONTINA DOP

Andrea BARMAZ¹, Luca VERNETTI-PROT¹, Rita PRAMOTTON¹, Simona ZENATO^{1*}.....91-94

* Corrispondenza ed estratti: s.zenato@iaraosta.it

¹ Institut Agricole Régional, Rég. La Rochère 1/A, 11100 Aosta

RIASSUNTO - Nel corso degli ultimi anni si è assistito a un aumento delle forme di formaggio Fontina DOP che presentano colorazioni anomale nella pasta. Allo scopo di interpretare il fenomeno sono stati analizzati campioni di forme con difetto di colorazione e tamponi di assi su cui le medesime appoggiavano nel corso della stagionatura. Mediante analisi di microbiologia classica e tecnica di sequenziamento del rDNA16S sono state identificate, sia nei formaggi difettati sia sulle assi, diverse specie batteriche la maggior parte appartenenti ai generi: *Alcaligenes*, *Tetrathibacter*, *Xantomonas* e *Pseudomonas*. Diverse specie appartenenti ai suddetti generi sono psicrofile e chemioautotrofe facoltative, possono formare biofilm, colonizzare svariati habitat come il legno, modificandone il colore e la composizione e contaminare i prodotti lattiero-caseari causando un difetto di colorazione conosciuto come “rosso dei bancali”. In occasione di una prova sperimentale sono stati collocati quattro formaggi su un asse deteriorato e tre forme, dopo circa due mesi, hanno manifestato il difetto di colorazione in pasta. Le relative analisi microbiologiche e molecolari hanno evidenziato la stessa microflora rilevata nei campioni prelevati nel magazzino di stagionatura su forme di Fontina difettate e sugli assi. Alla luce di quanto emerso, si potrebbe ipotizzare che tra le possibili cause di colorazioni anomale nella pasta di formaggio Fontina DOP vi possa essere l'attività metabolica di una complessa comunità di microrganismi interagenti col substrato e fra loro; tale microflora, infatti, si rileva sia nei formaggi sia, come biofilm, sulle assi utilizzate nella stagionatura. Analisi chimiche eseguite sulla pasta difettosa hanno inoltre evidenziato un quadro di irrancidimento chetonico-ossidativo marcato, un attacco ossidativo a carico del grasso e una spiccata degradazione proteica.

Parole chiave: colorazioni anomale formaggio, caratterizzazione molecolare, Fontina DOP

SUMMARY - Abnormal colouration in DOP Fontina cheese – In recent years there has been an increase in the number of DOP Fontina cheese wheels which present abnormal cheese mass colouration. Samples taken from cheeses with colour defects and environmental swabs taken from the boards on which the wheels were placed during the maturing process were analysed to interpret the phenomenon. Various bacterial species mostly belonging to the *Alcaligenes*, *Tetrathibacter*, *Xantomonas* and *Pseudomonas* genera were identified on both the defective cheese samples and boards using classical microbiological analysis and the rDNA16S sequencing technique. Several species belonging to the above genera are elective psychrophiles and chemoautotrophes; they can form biofilm, colonize various habitats such as wood, changing their colour and composition and contaminate dairy products causing a colour defect known as “rosso dei bancali”. During an experimental trial four cheeses were placed on a contaminated board and, after about two months, three of them had developed colour defects. The relative microbiological and molecular analyses picked up the same microflora detected in samples taken from defective Fontina wheels and boards stored in the maturing room. In the light of the findings, one might speculate that among possible causes of abnormal colour in DOP Fontina cheese mass, one could be the metabolic activity of a complex community of organisms interacting with the substratum and each other. The same microflora was in fact detected on both the cheeses and, as bio-films, on the boards used during the maturing process. Moreover chemical analysis performed on defective cheese mass also highlighted marked ketone and oxidative rancidity, oxidative attack on fats and evident protein degradation.

Keywords: abnormal cheese colourations, molecular characterization, DOP Fontina

COINVOLGIMENTO DELLA REAZIONE DI MAILLARD IN FORMAGGIO FONTINA DOP CON COLORAZIONE ANOMALA DELLA PASTA

Sabina VALENTINI^{1*}, Antonella SADO¹, Hervé LALE MURIX¹, Andrea BARMAZ¹.....95-99

* Corrispondenza ed estratti: s.valentini@iaraosta.it

¹ Institut Agricole Régional. Reg. la Rochère 1/A, 11100 Aosta

RIASSUNTO - L'accumulo di zuccheri riducenti, insieme alle normali reazioni di proteolisi che avvengono durante la stagionatura del formaggio, possono creare le condizioni favorevoli alla reazione di Maillard. Un indicatore specifico di questa reazione di imbrunimento negli alimenti, soprattutto nei prodotti lattiero-caseari, è la furosina [N Σ -(furoylmethyl)-L-lysine] prodotto precoce della reazione di Maillard. Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la presenza di zuccheri riducenti residui in forme di Fontina DOP che presentavano colorazione anomala in pasta e di studiare il coinvolgimento della reazione di Maillard nella comparsa della colorazione bruna attraverso la determinazione della furosina. I campioni di Fontina DOP con colorazione anomala della pasta hanno mostrato un significativo accumulo di glucosio in confronto ai campioni controllo, mentre è stato riscontrato un lieve, ma non significativo, residuo di galattosio. Non è stato, invece, trovato alcun residuo di lattosio. Il contenuto di furosina era significativamente più elevato nei campioni di Fontina DOP difettosi, rispetto ai campioni controllo. Questi risultati suggeriscono che la presenza di zuccheri residui riducenti durante il processo di proteolisi, che si rileva normalmente durante la stagionatura dei formaggi, può innescare la formazione di prodotti di glicosidazione, in particolare della furosina, che accumulandosi possono causare colorazione bruna nel formaggio. Questo studio ha evidenziato reazioni chimiche potenzialmente responsabili di colorazione anomala in pasta di formaggio Fontina DOP, rimangono però da chiarire quali siano i meccanismi microbiologici e biochimici responsabili dell'accumulo di zuccheri riducenti nel formaggio.

Parole chiave: Fontina DOP, colorazione anomala, zuccheri riducenti, furosina, HPLCMS/MS

SUMMARY - Involvement of the Maillard reaction in Fontina cheese with brown discoloration - Accumulation of reducing sugar, accompanied by the normal proteolysis that occurs in cheese, creates the potential for the Maillard browning reaction. A sensitive indicator for the assessment of Maillard browning reaction in food, in dairy products in particular, is furosine [N Σ -(furoylmethyl)-L-lysine] formed during the hydrolysis of early Maillard products of proteins. The aim of this study was to investigate the presence of residual reducing sugar in Fontina cheese with brown discoloration and studying the involvement of the Maillard reaction through the determination of Furosine. Fontina cheese with brown discoloration showed a significant accumulation of glucose in comparison with the control while some, but not significant, residual galactose was present in both. No residual lactose was found. The furosine content was significantly higher in the cheese with defects than in the control. These results suggest that the presence of residual sugar during proteolysis, occurring in cheese throughout ripening, creates the potential for the formation of glycation compounds in particular furosine that accumulates causing brown discoloration in cheese. The present study describes chemical investigations carried out to determine the origin of brown discoloration in Fontina cheese, but microbiological and biochemical mechanisms involved in residual sugar accumulation still need to be investigated. **Keywords:** Fontina PDO, brown discoloration, reducing sugars, furosine, HPLC-MS/MS

METODO PER LA QUANTIFICAZIONE DELLE VARIANTI GENETICHE DI BETA-CASEINA

Omar BULGARI¹, Monica RAINERI¹, Carmen GIGLIOTTI¹, Anna Maria CAROLI^{1*}..... 101-107

* Corrispondenza ed estratti: caroli@med.unibs.it

¹ Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi. Viale Europa 11, 25123 Brescia

RIASSUNTO - L'intenso dibattito sugli eventuali effetti più favorevoli sulla salute del cosiddetto latte "A2" (A2 milk) rende di particolare interesse la possibilità di quantificare, rispetto al totale di beta-caseina presente in un certo latte di massa, la percentuale di beta-caseina "tipo A₂", facendo riferimento con questo nome a tutte quelle varianti che portano, in posizione amminoacidica 67 della proteina matura, la prolina rispetto all'istidina. La presenza di His₆₇ determina un più elevato rilascio di beta-casomorfina-7 (BCM7), peptide con proprietà oppioidi. È stato messo a punto un test che consente di dosare la percentuale di beta-caseina "tipo A₂" sul totale di beta-caseina, a livello di latte di massa. Il test è basato sull'utilizzo della tecnica dell'isoelettrofocalizzazione (IEF) abbinata alla successiva acquisizione e quantificazione del gel mediante software per analisi di immagine. Per poter più efficacemente quantificare le principali varianti di beta-caseina (A₂ e A₁) e, in particolare, la variante A₁ che migra molto vicino alla variante B di beta-lattoglobulina, si è acquisito il gel IEF subito dopo la fissazione in acido tricloroacetico. Le bande relative alla frazione beta-caseina si evidenziano nettamente rispetto a quelle relative alle due principali sieroproteine. Il protocollo sviluppato permette di valutare con costi ridotti l'incidenza della beta-caseina "tipo A₂" nei campioni di latte di massa. Si tratta di un metodo che può essere utilmente applicato nelle analisi di routine con un duplice scopo. Da una parte, risulta interessante monitorare la distribuzione del latte "A2" nelle diverse aziende e aree di produzione per evitare una eventuale riduzione eccessiva delle varianti associate a questo tipo di latte e, quindi, ad una inferiore liberazione potenziale di BCM7 da latte e derivati. D'altra parte, può risultare importante, da un punto di vista più strettamente commerciale, non solo mettere in evidenza la presenza delle varianti "tipo A₂", ma anche quantificarne il contenuto percentuale, nel latte e nei derivati non esclusivamente prodotti da bovine selezionate per la beta-caseina "tipo A₂".

Parole chiave: latte bovino, polimorfismo proteico, beta-caseina

SUMMARY - A method for the quantification of the genetic variants of beta-casein - The debate on the potential more favorable effects on health of the so-called "A2 milk" makes of particular interest the ability to quantify, on the total beta-casein of a bulk milk, the percentage of "type A₂" beta-casein, referring with this name to all the genetic variants which carry proline instead of histidine at the amino acid position 67 of the mature protein. The presence of His₆₇ determines a higher release of beta-casomorphin-7 (BCM7), peptide with opioid properties. It has been developed a test which allows to dose the percentage of milk betacasein "type A₂" on the total beta-casein, at the level of bulk milk. The test is based on the use of isoelectric focusing (IEF) followed by the acquisition and quantification of the gel with a software for imaging analysis. In order to more effectively quantify the main variants of beta-casein (A₁ and A₂) and, in particular, the A₁ variant which migrates very close to the B variant of beta-lactoglobulin, the IEF gel was acquired for imaging analysis immediately after fixation in trichloroacetic acid. In fact, the bands related to beta-casein are visible more clearly than those relating to the two main whey proteins. The cheap protocol developed allows to evaluate efficiently the incidence of the "A2" milk in bulk milk samples. It is a method that can be usefully applied in routine analysis with a dual purpose. On the one hand, it is interesting to monitor the distribution of "type A₂" beta-casein variants in the different herds and production areas to avoid a possible excessive reduction of the betacasein variants associated with this type of milk and, therefore, with a lower potential liberation of BCM7 from milk and derivatives. On the other hand, from a commercial point of view it may be important not only to highlight the presence of "type A₂" variants, but also to quantify their content in milk and dairy products not only derived from selected "A2" cows.

Keywords: bovine milk, protein polymorphism, beta-casein

Bulgari *et al* (2013) *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 64 (3-4), 101-107

RELAZIONE TRA SEDIMENTO DEL LATTE UHT, ATTIVITÀ PROTEASICA E LIPASICA TOTALE

Omar BULGARI¹, Antonio FIERRO², Anna Maria CAROLI^{1*}, Carmen GIGLIOTTI¹.....109-115

* Corrispondenza ed estratti: caroli@med.unibs.it

¹ Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi. Viale Europa 11, 25123 Brescia

² Centrale del Latte. Via Lamarmora 189, 25124 Brescia

RIASSUNTO - Il latte sterilizzato con l'uso di trattamenti UHT tende ad essere instabile durante la conservazione. Si possono verificare due tipi di processi: la formazione di sedimento, strato di materiale proteico sul fondo del contenitore di stoccaggio, e la gelificazione, con aumento della viscosità del latte fino alla formazione di un gel. La sedimentazione e la gelificazione sembrano avere un certo numero di cause, generalmente poco definite. Il meccanismo di sedimentazione delle micelle caseiniche durante la conservazione, in particolare, non è ben compreso. Un'ipotesi semplice è che le micelle incomincino ad aggregarsi come risultato immediato o a lungo termine del trattamento termico e che queste micelle aggregate, essendo più massicce, sedimentino a formare uno strato di aggregati di materiale precipitato. Resta ancora da chiarire perché le micelle si aggregano e perché formino un precipitato piuttosto che un gel. Il latte bovino è un prodotto biologicamente attivo, contenente una sessantina di enzimi endogeni. Gli enzimi più importanti dal punto di vista della qualità del latte e della sua shelf-life sono le proteasi e le lipasi. Da qui l'interesse a seguire queste attività in una serie di campioni della filiera UHT appositamente raccolti. Per la valutazione dell'attività proteasica e lipasica totale sono stati utilizzati due metodi colorimetrici. La quantità di sedimento è stata valutata mediante metodo gravimetrico. I risultati ottenuti suggeriscono che le attività enzimatiche analizzate siano biomarcatori potenzialmente utili per predire la quantità di sedimento del latte in funzione della sua shelf-life. In particolare, l'attività proteasica misurata sul latte pastorizzato e l'attività lipasica misurata sul latte pastorizzato e uperizzato potrebbero fornire una previsione riguardo alla quantità di sedimento che si forma nel corso della conservazione del latte.

Parole chiave: latte UHT, shelf-life, attività enzimatica

SUMMARY - Relation between sediment and total protease and lipase activities in UHT milk - Milk sterilized by ultra-high temperature (UHT) tends to be unstable during storage. Two types of processes may occur: formation of sediment, which is a layer of proteinaceous material at the bottom of milk container, and gelation, with an increase of milk viscosity leading to the formation of a gel throughout the milk. The causes of such processes are not yet well established. In particular, the mechanism of casein sedimentation during milk storage is unclear. A hypothesis is that the micelles aggregate as a result of the heat treatment and that these aggregated micelles sediment as a layer of precipitated material. Why the micelles aggregate and form a precipitate rather than a gel is also still unclear. Bovine milk is a biologically active product, which contains almost sixty endogenous enzymes. From the point of view of milk quality and shelf-life, proteases and lipases are the most important enzymes which deserve particular attention within the UHT process. The aim of this study was to evaluate the total protease activity (TPA) and total lipase activity (TLA) in different milk samples collected during UHT process and storage, and to evaluate the relations with sediment. Two colorimetric methods were used for the evaluation of TPA and TLA. The quantity of sediment was evaluated by a gravimetric method. The results suggest that TPA and TLA are potential markers suitable to foresee the quantity of milk sediment as a function of milk shelf-life. In particular, TPA of pasteurised milk and TLA of pasteurized and UHT milk were positively correlated with the formation of sediment during milk storage.

Keywords: UHT milk, shelf-life, enzymatic activity

DETERMINAZIONE DELLA FOSFATASI ALCALINA NEL LATTE: CONFRONTO TRA METODICHE E STRUMENTI

Elena BUFFOLI¹, Francesca FUSI¹, Giuseppe BOLZONI^{1*}...117-125

* Corrispondenza ed estratti: crn.qualita.latte@izsler.it

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna - Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte Bovino. Via Bianchi 9, Brescia

RIASSUNTO - La determinazione della Fosfatasi Alcalina è il principale indicatore di corretta pastorizzazione del latte; il limite legale è fissato in 350mU/L (Reg. CE 1664/2006). In questo lavoro sono stati confrontati due diversi strumenti per la determinazione dell'attività fosfatasi presente nei campioni: lo strumento Fluorophos® Test System, in uso presso il Laboratorio, che si basa su una reazione fluorimetrica, e lo strumento F-AP™ Fast Test with novaLUM™, di più facile e rapido impiego, che sfrutta, invece, il principio della chemiluminescenza. Sono stati analizzati complessivamente oltre 100 campioni di latte di specie differenti e titolo in grasso diverso, crudi o sottoposti a trattamento termico. Al fine di permettere le valutazioni di confronto, il risultato ottenuto in fluorimetria è stato assunto come valore di riferimento senza che ciò lo definisca come "valore reale". Dal punto di vista quantitativo è emersa una tendenza alla sovrastima dello strumento basato sulla chemiluminescenza, che conferma osservazioni precedenti di altri autori. Risultati più concordanti si osservano, invece, se si considerano i dati del confronto dal punto di vista qualitativo: le capacità di discriminazione tra prodotti correttamente pastorizzati e prodotti trattati in modo insufficiente o crudi coincide nella quasi totalità dei campioni analizzati.

Parole chiave: latte, fosfatasi alcalina, Fluorophos®, F-AP™

SUMMARY - Determination of alkaline phosphatase activity in milk: comparison between methods and instruments - The Alkaline Phosphatase is a heat susceptible enzyme and its detection is used as retrospective indicator for milk pasteurization. The legal limit that guarantees a successful pasteurization is <350 mU/L (Reg. CE 1664/2006). In this study the ALP activity was determined by using two different analytical methods: the first, commonly applied in our Laboratory, is based on a fluorescence reaction and employs the Fluorophos®; the second is easier and quick to perform is based on chemiluminescence principle and uses the F-AP™. About 100 different samples were analyzed including milk samples of different species with a variable quantity of fat, both raw and heat-treated. The Fluorophos® results were used as reference values for the comparison, even if they are not "true values". Overall results show an overestimation trend of chemiluminescence vs fluorimetric technique that confirms previous observations of Albillos *et al.* More similar results in almost all samples analyzed were observed in term of qualitative outcome i.e. the ability to correctly identify the milk pasteurization and to discriminate between wellpasteurized and raw or insufficient heat-treated products.

Keywords: milk, Alkaline Phosphatase, Fluorophos®, F-AP™

Buffoli *et al* (2013) *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 64 (3-4), 117-125

RESISTENZA NEI CONFRONTI DI ERITROMICINA E TETRACICLINA IN BATTERI LATTICI ISOLATI DA PECORINI TRADIZIONALI DELLA TOSCANA

Barbara TURCHI^{1*}, Filippo FRATINI¹, Fabrizio BERTELLONI¹, Angelo MACCHI², Valentina Virginia EBANI¹, Domenico CERRI¹...127-132

* Corrispondenza ed estratti: barbara.turchi@for.unipi.it

¹ Dipartimento di Scienze Veterinarie. Università di Pisa. Viale delle Piagge 2, Italia

² Dottore Magistrale in Scienze e Tecnologie delle Produzioni Animali, Collaboratore esterno

RIASSUNTO - L'uso indiscriminato di antibiotici come additivi ad azione auxinica o agenti terapeutici nell'alimentazione animale è tra le cause della rapida insorgenza di flore microbiche caratterizzate da resistenze multiple anche trasferibili orizzontalmente. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare la presenza di antibiotico-resistenze nei confronti di tetraciclina ed eritromicina in batteri lattici isolati da prodotti lattiero-caseari tradizionali toscani. Settantanove ceppi appartenenti ai generi *Lactobacillus* e *Lactococcus* sono stati testati al fine di determinare il valore di Minima Concentrazione Inibente (MIC). I criteri adottati per distinguere ceppi resistenti e sensibili sono quelli dichiarati dall'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) nel 2012. Per il genere *Lactobacillus* è stata osservata una notevole resistenza nei confronti di tetraciclina, soprattutto in *Lactobacillus plantarum* (72,4%). *Lactobacillus paracasei* si è, invece, dimostrato sensibile (69,2%). Nei confronti di eritromicina la suscettibilità del genere *Lactobacillus* è risultata molto elevata (97,5%). Relativamente al genere *Lactococcus* per tetraciclina, si è osservata una prevalenza dei ceppi sensibili (81%) rispetto ai resistenti. Nei confronti di eritromicina si è avuto un comportamento analogo a quello rilevato per il genere *Lactobacillus*, con sensibilità pari al 100%. La resistenza nei confronti di tetraciclina è risultata decisamente superiore sia in *Lactobacillus* spp che in *Lactococcus* spp. Allo stesso tempo una spiccata sensibilità è stata osservata nei confronti di eritromicina. Questo dato potrebbe trovare spiegazione nel largo impiego di tetraciclina in ambito zootecnico effettuato nel corso degli anni. I risultati di questo lavoro evidenziano la presenza di fenotipi resistenti in flore lattiche che possono comunemente ritrovarsi nei prodotti caseari. Sebbene attualmente i batteri lattici non rappresentino la maggiore fonte di antibiotico-resistenza negli alimenti, la presenza anche di pochi ceppi resistenti può comunque rappresentare un pericolo per la salute del consumatore. A questo proposito, la determinazione del valore di MIC rappresenta un valido strumento al fine di individuare i ceppi potenzialmente portatori di geni di resistenza trasferibili.

Parole chiave: antibiotico-resistenza, batteri lattici, minima concentrazione inibente, eritromicina, tetraciclina

SUMMARY - Resistance against tetracycline and erythromycin in lactic acid bacteria isolated from Tuscan traditional dairy products - The use of antibiotics as therapeutic additives or growth promoters in animal feeding is one of the main cause of the rapid spread of multidrug resistant microorganisms. The aim of the present work was to evaluate the antibiotic resistance against tetracycline and erythromycin in lactic acid bacteria isolated from Tuscan traditional dairy products. Seventy-nine strains belonging to genus *Lactobacillus* and *Lactococcus* were tested to determine their Minimum Inhibitory Concentration values (MIC). Susceptible and resistant strains were determined according to the European Food Safety Authority guidelines (EFSA, 2012). As concern *Lactobacillus* spp we observed a high resistance against tetracycline, especially for the strains belonging to the species *Lactobacillus plantarum* (72,4%). *Lactobacillus paracasei* showed instead a higher percentage of susceptibility (69,2%). Almost all the *Lactobacillus* strains were also susceptible to erythromycin (97,5%). *Lactococcus* strains demonstrated a different behavior with a prevalence of susceptible strains for both tetracycline (81%) and erythromycin (100%). In general we observed a high overall resistance against tetracycline and a remarkable susceptibility against erythromycin in both tested genus. This could be related to the wide use of tetracycline in animal husbandry as growth promoters, which was a common practice in the past. The use of erythromycin, on the contrary, has always been more therapeutic treatment focused. In conclusion, the results of the present work highlight the presence of resistant phenotypes in lactic acid bacteria strains which can be easily isolated from dairy products. Nowadays lactic acid bacteria are not the main source of antibiotic-resistance in food, however the presence of few resistant strains represent a real a risk for consumers. Thus, the determination of MIC values represents the best tool to identify the strains which could harbour resistance genes located on mobile genetic elements horizontally transmissible among microorganisms.

Keywords: antibiotic-resistance, lactic acid bacteria, minimum inhibitory concentration, erythromycin, tetracycline

EFFETTI DELLA SOMMINISTRAZIONE DI ALOE NEL PERIPARTO SULLA QUALITÀ DEL LATTE BOVINO

Erminio TREVISI^{1*}, Paolo GROSSI¹, Simone COGROSSI¹, Giacomo PANELLA², Fiorenzo PICCIOLI CAPPELLI¹...133-142

* Corrispondenza ed estratti: erminio.trevisi@unicatt.it

¹ Istituto di Zootecnica, Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università Cattolica del Sacro Cuore. Via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza

² Azienda Sperimentale Vittorio Tadini, Gariga di Podenzano, Piacenza

RIASSUNTO - L'uso dei nutraceutici nelle bovine durante il periparto è stato proposto per migliorare il loro stato di salute, ma le conoscenze degli effetti sono scarse, specie sul latte. Lo scopo di questa ricerca è stato quello di valutare gli effetti di una somministrazione di *Aloe arborescens* durante il periparto sulla qualità del latte bovino. In 2 allevamenti sperimentali 40 bovine in asciutta sono state divise in due gruppi omogenei. Uno di questi ha ricevuto la somministrazione orale di un omogenato di aloe tra 14 giorni prima e 14 giorni dopo il parto (ALOE); mentre l'altro non ha subito alcuna integrazione ed è servito da controllo (CTR). Nel mese prima e dopo il parto, di ciascun animale è stato controllato lo stato di salute e di ingrassamento, la produzione di latte e le sue caratteristiche (immunoglobuline, cellule somatiche, composizione, attitudine casearia). Gli animali ALOE hanno mostrato meno problemi clinici rispetto al CTR, una perdita minore di riserve corporee (BCS) ed una analoga produzione di latte. A livello della composizione del latte, le bovine ALOE hanno mostrato nel primo mese di lattazione un numero inferiore di cellule somatiche ($P<0,01$), un minor tenore lipidico ($P<0,05$), un leggero aumento del contenuto in caseina e dell'acidità titolabile. Nel complesso quindi il trattamento ha determinato un miglioramento dello stato di salute delle bovine, mammella inclusa, imputabile alla mitigazione del bilancio energetico negativo, come confermato dal minore calo di BCS. La riduzione del deficit energetico in avvio di lattazione giustifica anche il miglioramento delle caratteristiche casearie del latte (più caseine ed acidità più elevata). Sebbene tali risultati richiedano una conferma dalle variazioni metaboliche ed immunitarie, essi incoraggiano l'uso di nutraceutici nel periparto.

Parole chiave: aloe, cellule somatiche, qualità latte, periparto, bovine

SUMMARY - Effects of an *Aloe arborescens* administration to periparturient dairy cows on the quality of milk - The administration of nutraceuticals to periparturient dairy cows was proposed to improve their health status, but the knowledge on their effects are poor, in particular about milk. The aim of this research was to assess the effects of an *Aloe arborescens* administration to periparturient dairy cows on the quality of milk. Forty cows were divided in two homogeneous groups in two experimental farms. One of these groups was orally administered an aloe homogenate starting from 14 days before through 14 days after calving (ALOE); the other group did not receive any supplement and was used as control (CTR). The months before and after calving every cow underwent checking on health status and body condition score, milk yield and its characteristics (immunoglobulin, somatic cell count, composition, cheese making attitude). ALOE cows showed less clinical health issues than CTR, a lower BCS decrease and a similar milk yield. Concerning milk composition, ALOE cows showed during the first month of lactation a lower somatic cell count ($P<0.01$), a lower milk fat content ($P<0.05$) and a slight increase of casein content and of titratable acidity. Overall, the treatment determined an improvement of the cows' health status, including mammary gland, due to the mitigation of the negative energy balance, confirmed by the lower BCS drop. The reduction of energy deficit at the beginning of lactation justifies also the improvement of the dairy characteristics of the milk (higher casein and titratable acidity). Despite these results need a confirmation by the metabolic and immune variations, they encourage the use of nutraceuticals on periparturient dairy cows.

Keywords: aloe, somatic cell count, milk composition, transition period, dairy cow

ANALISI DI UN PANNELLO DI 96 SNP IN GENI CANDIDATI E LORO ASSOCIAZIONE CON I CARATTERI QUALITATIVI DEL LATTE

Stefania CHESSA^{1*}, Paola CREMONESI¹, Giuseppe CONTE^{1,2}, Marcello MELE³, Marta RASCHETTI¹, Nicola MORANDI^{4,5}, Chiara FERRANDI⁵, Bianca CASTIGLIONI¹...143-148

* Corrispondenza ed estratti: chessa@ibba.cnr.it

¹ Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria - C.N.R., Milano (UOS-Lodi)

² Centro Ricerche Agro-Ambientali "E. Avanzi", Università di Pisa

³ Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa

⁴ Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università di Milano

⁵ Parco Tecnologico Padano, Lodi

RIASSUNTO - Negli ultimi anni è stata data molta importanza alla composizione in acidi grassi del latte sia per l'effetto esercitato sulla qualità tecnologica e nutrizionale sia per il ruolo di alcuni di essi sulla salute umana. La loro elevata variabilità è risultata discretamente ereditabile e sono ormai noti molti geni i cui polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) hanno effetto sulle caratteristiche quali-quantitative del latte. La stima di tali effetti deve essere sempre verificata nella popolazione in cui s'intende utilizzare l'informazione nella selezione assistita da marcatori. A tal fine sono stati raccolti 380 campioni individuali di latte e sangue di bovine di razza Frisona in 27 allevamenti. Sono stati registrati i dati produttivi (kg di latte, percentuale in grasso e proteina, cellule) ed è stata determinata la composizione acidica dei campioni individuali di latte. Sono stati selezionati 96 SNP, di cui 84 in geni responsabili della sintesi proteica o coinvolti nel metabolismo lipidico e 12 utili per l'analisi di paternità. Il DNA è stato estratto da sangue ed è stata effettuata la genotipizzazione degli SNP mediante tecnologia Illumina-GoldenGate. L'analisi di associazione è stata condotta con l'utilizzo del software SAS/STAT (ANOVA), mentre l'analisi di parentela è stata effettuata con il software Cervus. Sono state trovate associazioni per quasi tutti i fenotipi con un numero di SNP variabile da 1 a 11. Sono in corso ulteriori analisi per verificare l'effetto degli aplotipi e l'effetto simultaneo di più SNP sullo stesso carattere.

Parole chiave: qualità del latte bovino, SNP, Frisona, acidi grassi

SUMMARY - Application of innovative molecular system for monitoring bovine mastitis – Our study aimed to develop a new diagnostic system for identification of *S. aureus* genetic subtypes more important in the etiology of chronic contagious mastitis. For this purpose 31 Lombardy dairy herds with the presence of *S. aureus* infection were selected. Sixteen of these were chosen for a case/control study: the 8 "case" herds had the higher prevalence of *S. aureus* mammary infection (> 28% positive herds) and the 8 "control" had the lower prevalence (< 6%). A total of 650 isolates of *S. aureus* from mammary quarters of all positive cows were genotyped with the RS-PCR, a technique based on the amplification of a portion of the intergenic spacer 16S-23S rRNA and analyzed also by multiplex PCR for the genes coding for some of the known *S. aureus* virulence factors. The RS-PCR analysis revealed 25 different profiles. *S. aureus* strains isolated from 5 of the "case" herds showed an identical profile to the genotype B, described in literature as highly associated with virulence gene patterns and pathogenic properties. Moreover all strains isolated in the "case" herds possessed genes encoding for enterotoxins and genetic polymorphisms characteristic of pathogenic and diffusive strains. Preliminary results confirmed that genotyping by RS-PCR represents an accurate, rapid, and cheap tool for future field studies on *S. aureus* mastitis strains and generates clinically relevant results.

Keywords: *S. aureus*, molecular characterization, RS-PCR