

# II° CONVEGNO NAZIONALE SUL LATTE DI ASINA LATTE D'ASINA: PERCHÉ



LATTE DI ASINA

## ATTI DEL CONVEGNO

**CENTRO CONGRESSI COLDIRETTI**

Via XXIV Maggio, 43 (Piazza del Quirinale)

Roma

**22 MARZO 2007**



Senato della Repubblica



*Ministero della Salute*



COLDIRETTI



**II° CONVEGNO NAZIONALE SUL LATTE DI ASINA  
LATTE D'ASINA: PERCHÉ**

**ATTI DEL CONVEGNO**

**CENTRO CONGRESSI COLDIRETTI**

Via XXIV Maggio, 43 (Piazza del Quirinale)

Roma

**22 MARZO 2007**

# Sommario

## INTRODUZIONE

Dott. Stefano Masini - Responsabile area ambiente e consumi Coldiretti.

## INTERVENTI ISTITUZIONALI

Dott. Sergio Marini - *Presidente Col diretti*

Dott. Nino Andena - *Presidente AIA*

Dott. Eugenio Milonis - *Presidente Consorzio Allevasini*

Dott. Silvio Borrello - *Direttore generale Sicurezza degli Alimenti  
e della Nutrizione (Min. Salute)*

Dott. Gianni G. Gatti - *Presidente CTO Allevasini*

## SESSIONE INTRODUTTIVA

Dott.ssa Gabriella Iannolino

*Dirigente Responsabile Settore di Ricerca Equini- ISZ Sicilia*

L'allevamento dell'asina: una realtà zootecnica in via di sviluppo ..... 22

Prof.ssa Giovanna Monti

*Dip. Scienze Pediatriche Ospedale Infantile Regina Margherita- Torino*

Efficacia del latte d'asina nella terapia dell'allergia  
alle proteine del latte vaccino ..... 24

Prof.ssa Daniela Beghelli

*Dip. Scienze Ambientali- Università di Camerino*

Valutazione del benessere animale ..... 31

Dott. Domenico D'Amico

*Medico Geriatra - A.S.L. 6 Palermo*

Utilizzo del latte d'asina in patologie di pertinenza geriatrica ..... 36

Prof. Giovanni Carlo Di Renzo

*Dip. Tecnico Economico- Università della Basilicata-Potenza*

Tecniche per il trattamento del latte d'asina ..... 40

## SESSIONE ACCREDITATA ECM

Prof. Paolo Polidori <i>Dip. Scienze ambientali - Università di Camerino</i> Quantificazione dell'isozima nel latte d'asina in fasi diverse della lattazione .....	48
Prof.ssa Francesca Conte <i>Dip. Sanità Pubblica Veterinaria - Università di Messina</i> Linee guida per il controllo igienico- sanitario del latte d'asina .....	53
Prof.ssa Angela Gabriella D'Alessandro <i>Dip. PRO.GE.S.A.- Università di Bari</i> La produzione del latte nell'asina.....	62
Prof.ssa Donata Marletta <i>DACPA Sez. Scienze delle produzioni animali- Università di Catania</i> Indagine preliminare sulla eterogeneità della frazione proteica del latte d'asina .....	67
Prof. Rocco Agostino <i>Dir. U.O.C. di pediatria, neonatologia e TIN Osp. Fatebenefratelli- Roma</i> Allattamento materno e latte d'asina.....	72
Prof. Francesco Chiarelli <i>Dir. Scuola di Specializzazione in pediatria- Chieti</i> Allergia alle proteine del latte vaccino: ruolo del latte d'asina .....	76
Prof. Giuseppe Iacono <i>Dir. Medico Divisione Medico-Pediatria Ospedale G. di Cristina- Palermo</i> L'uso del latte d'asina in dietoterapia .....	80

## SESSIONE POSTER

Dott.ssa Filomena Nazzaro <i>Istituto di Scienze dell'Alimentazione- CNR- Avellino</i> Isolamento di batteri lattici ad attività probiotica del latte d'asina .....	87
---	----



*... La via che percorro è fuori mano, è vero, ma d'incontrare un asino proprio non me lo aspettavo. Mi è sbucato innanzi all'improvviso e ora sta fermo di fronte a me, a qualche metro. Mi guarda deciso, anzi mi guarda dentro. Per giunta non porta né sella né capezza. Pensando che potrebbe essere impazzito, cambio strada. ....*

*.... "Dove vai?" - "In cerca di altri asini."*

*L'asino riflette un momento, poi mi dice:*

*"Di te mi fido. Se resti un altro poco con me, ti comunicherò il mio progetto." .....*

*"Le vie che seguo sono quelle che mi portano in zone dove gli asini che sopravvivono sono in pericolo.*

*Perciò percorro i sentieri di campagna, le viuzze circostanti le borgate, le mulattiere che rasentano i paesetti in altura, le strade periferiche delle piccole città.*

*Appena vedo un asino senza gente intorno, mi avvicino e gli faccio questo discorso:*

*- Noi ormai non serviamo più e fra qualche anno, morti i vecchi contadini e i vecchi pastori ci uccideranno tutti.*

*I tempi moderni non solo non ci amano, ma ci ritengono inutili e di peso.*

*I mezzi meccanici ci hanno sostituito in tutto e hanno reso vana la nostra funzione.*

*L'unica salvezza per noi è scappare e rifugiarsi ai piedi del Monte Aurito.*

*Lì vivremo a lungo e liberi; staremo insieme ai nostri figli e li vedremo crescere, senza che la capezza segni i loro visi, senza che il basto riempia di piaghe le loro schiene." .....*

Tratto dal romanzo di *Alessandro Petruccelli*  
"La favola dell'uomo senza amici"  
Robin Edizioni

**Noi siamo il Monte Aurito...  
tutti noi che operiamo per il "riscatto dell'asino"**

Ricevo dal Romualdo Ste-  
fanini la somma di Lire  
Venti (L. 20) per affitto di  
una somara a latte per giorni  
venti a Lire una al giorno.  
Vicenza, 31 Agosto 1903  
Carlo Luigi

"Ricevo dal Romualdo Stefanini la  
somma di lire venti (20) per affitto di  
una somara al latte per giorni venti a lire  
una al giorno

31 agosto 1903

## Introduzione

*Autorità, Convegnisti, Ospiti,*

porgo il benvenuto della Coldiretti ai partecipanti al II Convegno Nazionale sul Latte d'Asina.

Ringrazio, altresì, tutti gli autorevoli relatori per il lavoro svolto ai fini della valorizzazione del latte d'asina e dell'approfondimento delle tematiche connesse alla sua produzione, conservazione e trasformazione.

L'attenzione dei cittadini consumatori verso il territorio e lo sviluppo locale è una realtà inderogabile nel momento in cui la capacità produttiva delle imprese è strettamente correlata alle conoscenze tecnico-scientifiche ed al supporto degli strumenti programmatori in grado di garantire qualità, identità e sicurezza di beni e servizi.

Anche l'Unione Europea ha preso progressivamente atto della necessità di rivitalizzare le aree rurali, sia in direzione di una riduzione degli squilibri territoriali che per una maggiore e migliore valorizzazione delle risorse locali, al fine di incidere positivamente sugli stili di vita e le condizioni di benessere.

La "Convenzione sulla Diversità Biologica (CDB)" ratificata nel 1992 a Rio de Janeiro in occasione della "Conferenza sull'Ambiente e sullo Sviluppo" riserva all'agricoltura un ruolo fondamentale nella salvaguardia e nella valorizzazione delle biodiversità.

Uno dei principali obiettivi del Consorzio Nazionale Allevatori di Asini, "Allevasini", sostenuto da Coldiretti e AIA, è un innovativo modello di produzione agroalimentare, che tuteli la salute umana valorizzando territori spesso marginali non ricchi di valori sociali.

L'attività del Consorzio, supportata anche dalla ricerca scientifica e tecnologica, consentirà di realizzare una filiera integrata, dotata di disciplinari e strumenti di controllo, assicurando la qualità delle produzioni, garantite da prove certe di laboratorio: i risultati ottenuti potranno così contribuire all'apertura di nuovi spazi per il rilancio dell'economia territoriale attraverso produzioni destinate a migliorare la salute del consumatore e, sopra tutto, salvaguardare dall'estinzione un nobile animale come l'asino, dopo millenni di lavoro accanto all'uomo.

Oggi l'asino ci presenta il suo riscatto, quale "Partner Innovativo per un Nuovo Sviluppo locale".

DOTT. STEFANO MASINI  
*Responsabile Area Ambiente e Consumi Coldiretti*

# **Interventi istituzionali**





## Valorizzare il latte d'asina come risorsa economica, sociale ed ambientale

Dr. SERGIO MARINI  
*Presidente Coldiretti*

Valorizzare l'agricoltura come risorsa economica, sociale e ambientale per garantire alle imprese agricole opportunità di sviluppo e reddito in un quadro di piena integrazione dell'agricoltura con gli interessi economici e sociali del Paese. E' questo l'obiettivo prioritario della Coldiretti: un impegno determinante per la competitività del Made in Italy, che trova nell'agroalimentare un punto di forza.

Sono molteplici le esigenze alle quali l'agroalimentare italiano è chiamato a rispondere e che presentano importanti opportunità per le stesse imprese agricole in quanto possono portare ad aprire potenziali interessanti segmenti di mercato per la nostra agricoltura. Nuovi spazi che consentono di rispondere in termini di innovazione e di diversificazione del prodotto agricolo alla sfida che pone la concorrenza internazionale e che l'Italia può affrontare solo differenziandosi sul piano qualitativo, valorizzando alimenti a forte connotazione territoriale.

Grazie all'attività di conservazione delle razze animali in via di estinzione ed anche all'impegno di salvaguardia genetica che vede protagonisti gli allevamenti italiani, è stato possibile garantire la sopravvivenza di centinaia di specie di mucche, pecore, capre, cavalli, asini e maiali a rischio di scomparsa. È in tale contesto che Coldiretti insieme al Consorzio Nazionale Allevatori di asini ha avviato l'odierno momento di confronto finalizzato alla promozione del latte d'asina. Un prodotto al quale non si dedica sufficiente attenzione benché si tratti di un alimento avente proprietà nutrizionali e curative molto importanti soprattutto per alcune fasce di consumatori.

Dare impulso alla produzione di latte di asina per rispondere alle richieste crescenti dei consumatori, garantire la tracciabilità della produzione nei tanti allevamenti presenti sul territorio soprattutto nelle zone interne del Paese, fotografare la realtà produttiva nazionale di questo latte dalle caratteristiche uniche e molto apprezzato dai pediatri per le diete nella

prima infanzia perché è quello che può sostituire al meglio quello materno. È quanto cercheremo di fare oggi in occasione di questo incontro scientifico nella convinzione che dare slancio a questa particolare produzione significa raccogliere una opportunità produttiva che il territorio offre e che presenta notevoli prospettive di sviluppo.

La produzione di latte d'asina vede produttori di tutta Italia impegnati per la realizzazione di un alimento dalle caratteristiche singolari che riveste una grande importanza dal punto di vista medico e nutrizionale, assolutamente indispensabile soprattutto nei casi di tolleranza zero da parte dei neonati verso il latte artificiale. Un problema che riguarda in Italia ogni anno non meno di 15.000 bambini che nel latte d'asina trovano l'alimento indispensabile per la loro crescita, in quanto è quello che si presenta più simile al latte materno, come confermato da un recente studio condotto dal CNR<sup>1</sup>. L'impiego del latte d'asina è fortemente raccomandato, inoltre, anche negli adulti e negli anziani per le proprietà che esso presenta in termini di rafforzamento del sistema immunitario. Il latte di asina - ci dicono i medici e gli scienziati - contiene, infatti, sostanze quali il lisozima, la lattoferrina, le immunoglobuline ed acidi grassi insaturi che costituiscono sostanze ad effetto immunoprotettivo<sup>2</sup>. In particolare, per l'elevato contenuto di acidi grassi polinsaturi, è consigliato nelle diete ipocaloriche ed a basso contenuto di colesterolo, mentre per l'elevato contenuto in aminoacidi essenziali può trovare impiego nella dietetica tradizionale della terza età.

Un ulteriore impiego del latte d'asina, noto sin dall'antichità, ma diverso da quello alimentare e molto interessante per le prospettive di mercato, è quello cosmetico. L'industria cosmetica, infatti, lo utilizza per la produzione di saponi e creme, a causa delle sue proprietà rigeneranti e lenitive della pelle. Riscoprendo l'impiego del latte d'asina come ingrediente cosmetico diverse aziende hanno creato linee di prodotti a base di latte d'asina da utilizzare su tutti i tipi di pelle come barriera naturale della cute ammorbidendola e idratandola.

La produzione di latte d'asina, quindi, presenta

<sup>1</sup> cfr. comunicato Ansa: "Medicina: CNR; bimbi allergici? latte d'asina e' toccasana", in Internet: <http://www.latte.it/pages/indnews.htm>

prospettive di mercato interessanti e può costituire nella aree agricole vocate una scelta produttiva innovativa per l'impresa agricola che in alcuni contesti ha necessità di individuare nuovi sbocchi di mercato in quanto le tradizionali vocazioni produttive non consentono una sufficiente integrazione del reddito agricolo. Il problema da risolvere è quello di produrre in maniera più efficiente, abbassando anche i prezzi al consumo del prezioso liquido e creando la reperibilità del prodotto sul mercato, al fine di andare incontro alle esigenze delle famiglie.

La specie asinina ha sempre rappresentato un elemento caratteristico della zootecnia di molte aree marginali dell'Italia centro meridionale e proprio l'interesse verso le proprietà dietetico nutrizionali del latte di asina, comprovate dal mondo scientifico, consentono di farne a ragione un tema di estrema attualità.

Con l'introduzione della meccanizzazione agricola, la specie asinina si è avviata verso una graduale estinzione della quale sembrava non si accorgesse nessuno. Ma oggi, anche sotto la spinta di diverse sollecitazioni previste dalla Politica Agricola Comunitaria tra le quali la multifunzionalità e la tutela della biodiversità, sembrano esserci segnali di miglioramento in quanto si assiste alla rinascita in Europa e, in particolare in Italia, di piccoli allevamenti di asini in cui si cerca di recuperare i ceppi originari e favorire la riproduzione degli animali delle più diverse razze<sup>3</sup>.

In sostanza, il recupero dell'allevamento dell'asino si presenta da un lato, come un intervento di tutela della biodiversità in quanto consente la conservazione di una razza a rischio di estinzione, dall'altro, può rappresentare un'occasione di rinnovato sviluppo per molte aree marginali.

L'impresa agricola, dunque, che decide di orientarsi verso la produzione del latte d'asina risponde pienamente al ruolo multifunzionale che le viene richiesto dalla Politica Agricola Comunitaria. Tale specie può assumere un ruolo importante nello sviluppo sostenibile di un'area rurale contribuendone in modo significativo alla solida affermazione economica e sociale.

E' evidente che, affinché si avvii tale processo virtuoso, occorre prevedere attorno all'impresa che in-

tende specializzarsi nella produzione di latte d'asina, un progetto articolato di sviluppo che favorisca la collocazione del prodotto finale non solo tramite contratti di fornitura del latte a industrie agroalimentari, farmaceutiche o cosmetiche, ma anche attraverso la vendita diretta del prodotto in azienda che può essere incentivata inserendo l'allevamento nei circuiti propri del turismo rurale. Occorre avviare in sostanza un progetto di filiera che coinvolga in modo equilibrato allevatori, trasformatori e distributori, affinché sia possibile rispondere in modo adeguato alle richieste dei consumatori.

L'organizzazione di un progetto di filiera mirato alla diffusione del latte d'asina consentirebbe oltre alla creazione di una rete di produttori in grado di assicurare ai consumatori un prodotto di qualità, anche la razionalizzazione della rete di produzione e di distribuzione consentendo prezzi maggiormente accessibili al consumo, visto che oggi a causa della scarsità dell'offerta, il prezzo del latte d'asina in Italia oscilla tra i 10 e i 15 Euro al litro – contribuendo così a frenarne la sua diffusione.

Affinché sia possibile raggiungere l'obiettivo di una maggiore diffusione del latte d'asina, è indispensabile, parallelamente, l'ausilio della ricerca che in questo campo può fornire un valido contributo orientando l'allevatore verso un corretto regime alimentare degli animali e le razze più idonee alla produzione di latte nel rispetto del benessere animale al fine di garantire nel prodotto finale, l'ottenimento di quelle peculiarità nutrizionali che fanno del latte d'asina un alimento nutraceutico per eccellenza.

In questo ambito, sono già presenti alcune indicazioni interessanti: un programma di ricerca avviato dall'Università di Foggia, evidenzia come possa essere attuato il recupero e il rilancio di diverse razze asinine autoctone, come ad es. quella di Martina Franca, considerando le potenzialità produttive di un certo interesse, abbinata alle peculiari caratteristiche di frugalità dell'animale, che si traducono in bassi costi di allevamento<sup>4</sup>, caratteristiche queste che, se associate alla valorizzazione della produzione di latte, possono tradursi per l'allevatore in un risultato economico interessante.

Allo stesso tempo, è importante la collaborazione

2 Cfr. Progetto PRIN – Programmi di ricerca di Rilevante Interesse Nazionale “Valorizzazione di specie minori in aree marginali per la produzione di latte ad elevato valore bio-nutrizionale”, in Internet: [www.ricercaitaliana.it/prin/dettaglio\\_completo\\_prin-2004077999.htm](http://www.ricercaitaliana.it/prin/dettaglio_completo_prin-2004077999.htm) Università degli Studi di Foggia

3 Sulle diverse razze di asini presenti in Italia, v. Istituto sperimentale di zootecnia della Sicilia in Internet: [www.iszsicilia.it/](http://www.iszsicilia.it/) e [www.agraria.org/zootecnia/asinoragusano.htm](http://www.agraria.org/zootecnia/asinoragusano.htm)

4 V. nota 1.

del mondo scientifico e della medicina, al fine di avviare una campagna d'informazione mirata, sulle proprietà di tale alimento ed è, un segnale molto positivo, il fatto che a tale convegno abbia aderito in modo significativo, così da apportare un rilevante contributo.

L'auspicio, pertanto, è che l'iniziativa di oggi rappresenti un'occasione per promuovere l'allevamento di una specie animale che ha tutti i requisiti per contribuire in modo efficace alla ripresa della zootecnia italiana. L'augurio è quindi che oggi si pongano le basi per la promozione di un settore che può arrecare

non solo benefici in termini economici, ma anche contribuire validamente alla tutela della salute.

In conclusione, l'obiettivo che Coldiretti e il Consorzio Allevatori di asini si propongono, con il contributo del mondo scientifico e della ricerca, è che la specie asinina non resti solo un ricordo letterario della produzione favolistica classica, nonché un'icona del tradizionale lavoro agricolo nei campi, ma un'espressione viva della forza del territorio, un *soggetto promotore* di un segmento della filiera agroalimentare e, quindi, un agente innovatore dello Sviluppo Rurale.



## Una filiera di qualità per il latte d'asina italiano

Dr. NINO ANDENA  
*Presidente AIA*

Poppea e Cleopatra devono certamente essere ricordate per la pubblicità che hanno fatto al latte d'asina nel corso dei secoli, trasformandolo in elisir di bellezza.

Nella società di oggi siamo poco inclini a credere alle leggende, ma questo latte così presente nel mito riesce ancora a sorprenderci per le sue caratteristiche, nella consapevolezza che la ricerca scientifica potrà ulteriormente arricchire le conoscenze su questo alimento ricco di virtù.

Lo sperano ardentemente i genitori con bambini intolleranti o allergici alle proteine del latte vaccino, un problema che interessa centinaia di famiglie in tutta Italia e che trova nel latte d'asina la naturale soluzione. Nella società rurale lo si era intuito da secoli, pur senza conoscerne i motivi, e, quando c'erano a disposizione delle asine era difficile che persino i bambini più gracili crescessero con problemi alimentari.

Oggi dobbiamo impegnarci per fare sistema e dar vita ad una filiera produttiva che consenta agli allevatori di organizzarsi e garantire al consumatore un latte sano, prodotto in condizioni igieniche perfette, disponibile ad un prezzo remunerativo per l'imprenditore zootecnico, ma proponibile anche alle famiglie che ne hanno bisogno per i propri figli.

Un modo per eliminare i fenomeni speculativi che purtroppo talvolta si verificano nel variegato mondo dell'allevamento dell'asino e che non fanno onore a nessuno.

L'impegno è notevole, ma le prospettive sono più che incoraggianti, con la concreta possibilità di dar vita ad un nuovo settore ad elevato valore aggiunto. La medicina pediatrica dimostra di avere un interesse notevole per questo latte e ciò ci deve spingere a migliorare con decisione gli standard qualitativi, all'insegna della tracciabilità e della rintracciabilità. Certi che gli sforzi di tutti gli allevatori, supportati in questo cammino anche dall'Aia, saranno premiati dalla risposta del mercato.

Poppea e Cleopatra, a cui facevamo riferimento

all'inizio, hanno anche testimoniato il valore cosmetico del latte d'asina e già oggi ci sono esperienze lusinghiere sotto questo profilo, che vanno incoraggiate viste le reali doti delle creme e dei saponi preparati utilizzando questo nobile ingrediente. Allo stesso modo in cui la crescita di questo allevamento darà vita ad un indotto in cui i maschi, non utilizzabili per la produzione di latte, potranno trovar spazio in attività di pet-therapy o di turismo rurale.

Siamo insomma all'inizio di un promettente futuro ed è bene impostare lo sviluppo di questo settore al meglio delle nostre possibilità per ridare all'asino quella dignità che gli antichi gli riconoscevano, ma che nel nostro recente "lessico familiare" gli è stata tolta. Perché il vero problema è che oggi di asini (veri) ce ne sono forse troppo pochi...

## Riguardo all'Asino

*“Vive di poco posto et contentasi di ogni cosa, sopporta molto la carestia, la fame, la fatica, le busse, è pazientissimo di ogni persecuzione, di semplicissimo, et poverissimo spirito.*

*Sì ch'egli non sa discernere tra le lattughe et i cardi, di core innocente, et mondo, e senza colera, et ha pace con tutti gli animali; onde in merito di questa sua bontà non ha pidocchi, rare volte inferma, et più tardo che ogni altra bestia muore”.*

*(Tommaso Garzoni)*

Dr. EUGENIO MILONIS

*Presidente Consorzio Nazionale Allevasini*

L'essere considerato "...di poverissimo spirito...", "...di core innocente...e senza collera..." è costato all'asino l'appellativo di stupido e l'essere considerato esclusivamente animale da soma.

Per millenni sua unica attività instancabile è stata portare pesi e tirare carri in cambio di un po' di paglia e tante bastonate.

Nella seconda metà del XX secolo sostituito nel lavoro dei campi dalle macchine agricole ha corso serio rischio di estinzione, e molte razze infatti sono realmente scomparse, quando improvvisamente all'inizio del III millennio questo animale viene riscoperto, rivalutato. Si comincia a capire che l'asino può essere volano per molte attività di carattere sociale ed economico.

Per la prima volta viene utilizzato come partner nella pet - therapy, si chiama **onoterapia** la terapia che utilizza l'asino. Viene utilizzato nell' **onodidattica** con progetti pedagogici e nell' **onoturismo** per attività di trekking someggiato e riscoperta delle onovie.

Ma soprattutto si recupera un sapere antico: il grande valore del **latte d'asina**.

Ciò che la tradizione conosce da sempre deve oggi essere riscoperto in forma moderna e scientifica e rispondere alle esigenze nutrizionali sicure e alle leggi di mercato.

L'8 giugno 2006 per rispondere a queste esigenze nasce, con il sostegno della Coldiretti e dell'Aia, il

CONSORZIO NAZIONALE ALLEVATORI DI ASINI, denominato "ALLEVASINI" finalizzato alla salvaguardia dell'asino ed alla promozione delle attività ad esso connesse ed in particolare alla produzione di latte d'asina.

E' un punto di arrivo di un lungo percorso.

Sin dall'antichità si conoscono le proprietà nutrizionali e cosmetiche di questo latte.

E' anche un punto di partenza.

Soltanto in questi ultimi 20 anni la scienza si è interessata al latte d'asina.

Ricercatori in campo medico, della scienza della nutrizione e della medicina veterinaria hanno iniziato a studiarne la composizione, le proprietà e il suo utilizzo in particolare nell'infanzia e negli anziani.

Gli appuntamenti più importanti di questo percorso:

– 2003 Primo Convegno Nazionale sul latte d'asina al Sana di Roma, promosso da Asinomania.

– 2005 Convegno Nazionale sull'asino a Grosseto (argomento principale il latte d'asina)

– 2006 Convegno Nazionale sull'asino a Palermo (argomento principale il latte d'asina)

Oggi 22 marzo 2007 II Convegno Nazionale sul Latte di Asina, a carattere scientifico è rivolto a medici e veterinari, con particolare riferimento a pediatri, allergologi, dermatologi e geriatri.

Questo Convegno è una occasione per comunicare ufficialmente alla stampa e al pubblico la nascita del Consorzio Nazionale "Allevasini".

Il Consorzio nasce in primo luogo per rispondere

alle esigenze del mondo della medicina che chiede di conoscere, in senso scientifico, questo prodotto e di avere garanzie sulla qualità di produzione del latte d'asina per poterlo consigliare a coloro che ne hanno bisogno, sapendo di indirizzare le famiglie verso un nutriente naturale, sano, anallergico, ricco di difese immunitarie, di calcio ecc...

Un passo successivo sarà quello di rendere questo sostitutivo del latte materno convenzionabile. Le famiglie che non possono sostenere la spesa e hanno assoluto bisogno di questo nutriente terapeutico dovranno essere aiutate.

In secondo luogo per rispondere alle attese del mondo degli allevatori che numerosi aspettano di ricevere assicurazioni sulla vendita del latte per poter investire, crescere e trasformare le proprie aziende da piccole iniziative amatoriali quali sono oggi in vere e proprie aziende di produzione.

Questi allevamenti portano:

- Economia nelle aree interne, sviluppando imprese innovative che si aprono ad un mercato italiano e comunitario nel quale non trova al momento concorrenti e che necessita di grossi quantitativi di latte d'asina.
- Posti di lavoro, contribuendo ad arrestare il fenomeno dello spopolamento e della fuga dei giovani dalle aree interne.
- Incremento della popolazione asinina oggi a rischio di estinzione, a salvaguardia della biodiversità. Ritrovando l'asino una sua funzione sociale ed economica, torneremo a vederli nelle nostre campagne come accadeva un tempo.

Infine il Consorzio nasce per rispondere ai particolari bisogni delle famiglie con bambini intolleranti.

Queste famiglie sino ad oggi sono state assolutamente sole nell'affrontare i problemi derivanti dall'intolleranza alimentare nella fase neo-natale.

Quando si vedono fallire uno dopo l'altro tutti i rimedi attualmente disponibili sul mercato, i genitori di bambini affetti da intolleranza alimentare sono costretti a vagare alla ricerca del latte d'asina ed acquistarlo dove capita senza garanzia alcuna di qualità né di prezzo.

E' una condizione non degna di una società che vuole definirsi civile.

Il Consorzio partendo dal controllo di ciò che mangiano gli animali e dalle loro condizioni di vita, vuole seguire tutto la filiera sino al bicchiere di latte sulla tavola del consumatore.

A conclusione di questa presentazione desidero comunicare che il Consorzio ha promosso e affidato un lavoro di ricerca sulla trasformazione del latte d'asina in polvere in un primo tempo al CRAB (Centro Ricerche Agrobiotecnologiche) di Avezzano e successivamente all'ENEA (Biotec Agro-Trisaia) in collaborazione con l'Università di Camerino, prof. Paolo Polidori.

Oggi, pertanto, siamo in grado di trasformarlo in polvere mantenendo inalterate le proprietà del latte fresco.

Completata la fase di ricerca e di preindustrializzazione, si può con sicurezza dare concreto avvio alla industrializzazione dell'intero processo produttivo, che completerà la filiera sistemica integrata.



## Latte d'Asina

Dott. SILVIO BORRELLO

*Direttore Generale*

*della sicurezza degli alimenti e della nutrizione*

*Ministero della salute*

Il latte d'asina è considerato ormai da molti anni un ottimo alimento per molte categorie di consumatori in considerazione dell'elevata digeribilità, contenuto in vitamine, sali minerali, proteine e zuccheri di elevato valore, ma l'aspetto che ha destato maggiore interesse verso questo alimento è stato il suo profilo biochimico molto vicino al latte umano. Proprio per questo e soprattutto per il contenuto in lattosio, è il latte che molti pediatri hanno indicato come una valida alternativa al latte materno in grado di scongiurare allergie al latte vaccino attribuibili al contenuto in lattosio.

Fino al 2006, tuttavia, il latte d'asina non era inquadrato giuridicamente se non da un datato decreto del 1929. Il DPR n. 54/97 relativo alla produzione e commercializzazione di latte, considerava esclusivamente il latte vaccino, bufalino ed ovi-caprino.

Il Ministero della Salute in quel periodo ha ricevuto molte richieste di chiarimento circa la possibilità di commercializzare tale alimento, lo stesso Ministero, conseguentemente, sentito l'Ufficio legislativo, ha diramato una nota alle Regioni e Province auto-

nome di Trento e Bolzano indicando la possibilità di permetterne la commercializzazione ai sensi della Legge n. 283/62, confinandone, così, la commercializzazione al solo ambito nazionale.

Con l'entrata in vigore dei Regolamenti igiene il vuoto legislativo è stato superato.

Con l'allargamento dell'Unione europea a Stati con tradizioni alimentari diverse da quelle usuali e convenzionali, rappresentative solo di alcuni Stati dell'Unione, la Commissione europea ha inteso salvaguardare l'utilizzo di fonti proteiche derivate da latte diverso da quello bovino o ovi-caprino. Il Regolamento (CE) n. 853/2004, infatti, considera oltre quello vaccino, bufalino ed ovi-caprino, il latte di "altre specie animali" dettandone i requisiti igienico-sanitari, al momento ancora generici per tutte le specie, che possiamo definire, "minori".

E' necessario approfondire taluni aspetti riguardanti gli eventuali pericoli di natura microbiologica di questo latte, le condizioni e tempi di conservazione, nonché la tipologia di controlli che devono essere espletati sia in autocontrollo che da parte del servizio pubblico. E' indispensabile pertanto una collaborazione tra privati e Istituti pubblici nel campo della ricerca al fine di valorizzare un alimento importante dal punto di vista nutrizionale, per i fabbisogni di categorie particolari come bambini, anziani, soggetti allergici ed intolleranti.



## Il Consorzio Nazionale Allevatori di Asini ALLEVASINI

Valorizzazioni dell'asino in programmi di nuove utilizzazioni di interesse sociale ed economico

Dr. GIANNI G. GATTI

*Presidente C.T.O. Allevasini*

Siamo ormai consapevoli di una migliore e maggiore valorizzazione delle nostre potenziali risorse umane, ambientali, agroalimentari, accademiche, scientifiche e tecnologiche per rispondere alla sfida moderna ed alla globalizzazione dei mercati che impongono nuovi modelli di sviluppo. Ciò conduce alla necessità di strutturare soluzioni organizzative che permettano ai sistemi di integrarsi e di dialogare concretamente.

Sono questi i presupposti che hanno determinato la nascita del Consorzio Nazionale Allevatori di Asini denominato ALLEVASINI

Il Consorzio ALLEVASINI ha carattere tecnico, economico e di tutela. È stato costituito l'8 giugno 2006 e vede, come soci sostenitori, la Coldiretti e l'AIA. Ha sede legale presso la Coldiretti in Roma. Il Consorzio, in particolare, promuove e tutela il latte d'asina, svolge attività di vigilanza e controllo a vari livelli della filiera, garantisce e migliora costantemente la qualità del prodotto per la salute del consumatore anche sostenendo la ricerca scientifica e tecnologica fino all'ottenimento di marchi di qualità.

Le finalità del Consorzio, che prevedono tra l'altro l'avviamento di attività di innovazione, ricerche e sviluppo, e trasferimento di know-how al sistema di allevatori di asini per la valorizzazione e promozione delle produzioni zootecniche, possono di diritto iscriversi alle attività connesse allo *sviluppo rurale* armonizzandosi con le politiche regionali, nazionali e comunitarie.

Diviene oggi, quanto mai opportuno, orientarsi verso forme produttive agroalimentari "confinare" atte a fornire garanzie per la salute del consumatore dimostrando nel contempo le capacità di accoglienza da parte del mercato

Il livello di integrazione di competenze complementari e sinergiche, applicato per la prima volta agli allevamenti di asini, costituisce un esperimento di grande importanza che apre nuovi spazi per un concreto rilancio dell'economia rurale puntando a produzioni di nicchia ad alto valore commerciale.

Il Consorzio ha funzione di indirizzo, sostegno, coordinamento e controllo delle nuove attività dei consorziati e si configura come un sistema integrato e modulare aperto a nuove realtà, multidisciplinari: è costituito in forma di filiera integrata aperto a qualunque soggetto, privato o pubblico e vuole raccogliere ed orientare le intenzioni degli allevatori verso la ricerca scientifica e tecnologica applicata

Il Consorzio, pertanto, vede l'aggregazione di più soggetti complementari, allevatori, società di sviluppo di attività economiche, associazioni di categoria, istituti di ricerca, centri sperimentali pilota, ecc., capace pertanto di attivare concretamente una reale innovazione di prodotto e di processo nel settore agroalimentare

Il modello innovativo così strutturato costituisce un esperimento di grande importanza che, in particolare, vuole confermare quanto già noto da millenni in tutti gli strati sociali e cioè il latte d'asina è l'unico vero sostituto del latte materno. La ricerca scientifica ne sta dimostrando sia le ragioni che le nuove insospettite applicazioni. Il latte d'asina è un prodotto naturale ascrivibile nella categoria dei *pharma-food/nutraceutici* utili ai bambini come agli adulti. È nostro intendimento fornire ai medici un presidio *parafarmaceutico* sicuro, garantito da prove certe di laboratorio e spingere la ricerca scientifica e la sperimentazione clinica verso una conoscenza sempre più approfondita sul valore nutrizionale e salutistico del latte d'asina, nella convinzione che potrà essere sostenuto che esso è un "farmaco biologico sistemico", senza effetti collaterali e/o controindicazioni.

Il Consorzio è stato costituito, dopo numerose azioni propedeutiche effettuate dal Socio Promotore ONOS, che hanno confermato l'aderenza dell'innovazione di processo e di prodotto alle necessità dello *sviluppo rurale* e solo dopo che le opportune *ricerche di mercato* hanno confermato l'elevato potenziale della richiesta, non solo del latte d'asina (onolatte) ma anche delle altre attività economiche legate all'asino (come onoturismo, onocosmesi, onodidattica, onoterapia, ecc. ecc.)

Per il raggiungimento delle finalità statutarie, e per vincere questa sfida, abbiamo bisogno di tutti voi.

# Sessione introduttiva



## L'allevamento dell'asina: una realtà zootecnica in via di sviluppo

Dott.ssa GABRIELLA IANNOLINO  
*Istituto Sperimentale Zootecnico per la Sicilia*  
*Dirigente Responsabile Settore di Ricerca Equini*

L'asino è sempre stato considerato un animale poco intelligente, sottoposto a giudizi negativi e luoghi comuni.

In passato l'asino veniva utilizzato come animale da lavoro e da soma e a partire dagli anni 50 l'avvento della meccanizzazione e la sostituzione di razze autoctone con razze da reddito più specializzate e idonee a sistemi di allevamenti intensivi hanno relegato la presenza degli asini soltanto in poche aree marginali, portandolo adesso ad essere considerato dalla FAO un animale in pericolo di estinzione.

In Sicilia sono presenti due razze, la Ragusana e la Pantasca. La popolazione della Ragusana ammonta a circa 1.800 capi e grazie a provvedimenti mirati ed alla promozione di questo settore si sta registrando un incremento dei capi allevati; per la razza Pantasca esiste un programma di ricerca e di salvaguardia promosso dall'Azienda Regionale Foreste Demaniali. L'asino "Grigio Siciliano" è, invece, un'antica popolazione asinina ridotta a pochissimi esemplari, si spera per il futuro di avviare un progetto di salvaguardia anche per questi soggetti.

Negli ultimi anni si sta assistendo ad un processo di rivalutazione di tale animale dovuto ai recenti studi relativi al possibile impiego del latte d'asina come alimento sia per neonati e bambini allergici alle proteine del latte vaccino, ma anche per anziani e persone con problemi cardiovascolari o con problemi immunologici.

Recenti studi realizzati grazie ad una stretta collaborazione tra l'Istituto Sperimentale Zootecnico di Palermo, il Dipartimento SENFIMIZO Sez. Produzione Animale dell'Università di Palermo ed il Prof. Iacono, direttore della prima divisione di Gastroenterologia Pediatrica dell'ARNAS Civico di Palermo, hanno dimostrato la grande efficacia di questo prodotto nel trattamento delle poliallergie alimentari.

Il recente "2° Convegno Nazionale sull'Asino" tenutosi a Palermo presso la sede dell'Istituto, al quale hanno partecipato esperti provenienti da tutta l'Italia

ma anche dal Portogallo e dalla Spagna, ha evidenziato come in realtà l'asino può essere impiegato in svariati modi e come questi possono diventare anche strumento di salvaguardia dello stesso asino.

Dal recente convegno si sono evidenziati 2 problemi principali: il vuoto normativo relativo alla filiera del latte d'asina e la carente informazione del mondo medico rispetto a questo prezioso "alimento", che in alcuni casi può essere definito un "Farmafood".

Queste problematiche sono state assunte come obiettivo prioritario dal "Consorzio Nazionale ALLEVASINI" che facendosi carico delle istanze del mondo produttivo e dei consumatori ha avviato un percorso per portare sul mercato un prodotto che dia garanzie ai consumatori e tuteli il mondo allevatoriale.

La promozione di un settore è possibile solo se si investe sulla conoscenza ed il mondo scientifico zootecnico e veterinario ha investito molto, negli ultimi anni, in risorse umane ed economiche ed i dati scientifici a disposizione dei legislatori sono ormai più che sufficienti per avviare il processo normativo; si ritiene, però, doveroso puntualizzare che il percorso della ricerca è ancora molto lungo e sull'asino c'è ancora molto da capire e scoprire.

L'Istituto si è fatto promotore di progetti di promozione e formazione nell'ambito della filiera del latte d'asina, è in corso di attuazione nell'ambito dei P.O.R. Sicilia 200-2006 il Progetto n° 8, codice 1999.IT.16.1.PO.011/3.13/7.2.4/332, misura 3.13, titolo "Ricercatore Esperto di Gestione della Filiera di Produzione del Latte Asinino ed Equino", grazie a tale progetto sono stati formati 15 esperti nel settore che possono diventare supporto alle aziende e nello stesso tempo si stanno programmando ulteriori attività di ricerca da svolgere sul territorio regionale.

Il Governo Regionale sta inserendo nella nuova programmazione dei P.O.R. 2007-2013 misure specifiche per la promozione di questo settore zootecnico di impatto sociale così rilevante. Inoltre parlando di un prodotto la cui utenza è rappresentata da soggetti a rischio si stanno prevedendo premi per le aziende che prediligono nel proprio allevamento interventi a tutela del benessere animale, infatti il bi-

nomio “benessere animale – qualità del prodotto” è fondamentale per pensare ad un futuro produttivo delle aziende zootecniche.

L’attività dell’Istituto è stata volta soprattutto alla ricerca, alla sperimentazione, all’assistenza tecnica ed alla promozione di questo settore, i grandi risultati ottenuti fino ad oggi sono stati resi possibili grazie alla sinergia di Istituzioni che pur con competenze

diverse (Università, Consorzio “Allevasini”, allevatori, Ospedale dei Bambini e Policlinico di Palermo, ecc.) hanno collaborato mettendo in campo risorse umane, economiche e zootecniche per il raggiungimento di un unico obiettivo la promozione di un settore dalle grandi potenzialità in campo medico, sociale, zootecnico, turistico e non per ultimo affettivo.



# Efficacia del latte di asina nella terapia dell'allergia alle proteine del latte vaccino in bambini altamente problematici: uno studio in vivo e in vitro

GIOVANNA MONTI<sup>1</sup> PhD,  
ENRICO BERTINO<sup>2</sup> Md,  
MARIA CRISTINA MURATORE<sup>1</sup> Md,  
ALESSANDRA COSCIA<sup>2</sup> Md,  
FRANCESCO CRESI<sup>1</sup> Md,  
ROBERTO MINIERO<sup>1</sup> Md,  
CLAUDIO FABRIS<sup>2</sup> Md,  
DONATELLA FORTUNATO<sup>3</sup> PhD,  
MARIA GABRIELLA GIUFFRIDA<sup>3</sup> PhD,  
AMEDEO CONTI<sup>3</sup> PhD.

## Introduzione

Secondo studi europei e americani basati su rigorosi criteri diagnostici (challenge in doppio cieco contro placebo - DBPCFC), l'allergia alle proteine del latte vaccino (APLV) ha la sua massima prevalenza nell'infanzia, interessando circa il 3% dei bambini di età inferiore ai 3 anni [1,2] e rappresentando la più frequente allergia alimentare del lattante. Benché la maggior parte dei bambini allergici alle proteine del latte vaccino (PLV) acquisisca la tolleranza entro il quinto anno di vita, circa il 15% dei pazienti con APLV IgE-mediata mantiene la sua allergia anche nella seconda decade di vita e il 35% di essi presenta reazioni allergiche anche ad altri alimenti [1].

I quadri clinici dell'APLV possono variare da forme cutanee (dermatite atopica, orticaria/angioedema, rashes) a forme gastrointestinali (malattia da reflusso gastro-esofageo; esofagite, gastrite e gastroenterite eosinofila; enteropatia, enterocolite e proctocolite; deficit di accrescimento ponderale e talora staturale isolato; costipazione cronica) a reazioni anafilattiche potenzialmente pericolose per la vita (edema della glottide, ipotensione fino allo shock, asma serrato, sintomi cutanei e gastrointestinali acuti).

Il cardine terapeutico dell'APLV è rappresentato dalla totale eliminazione dalla dieta del bambino delle proteine del latte vaccino (latte, formulato o vaccino vero e proprio; derivati; alimenti notoriamente contenenti le suddette proteine – es. biscotti,

dolci; fonti “nascoste” di PLV – es. prosciutto cotto addizionato di caseina quale conservante, svariati alimenti confezionati, alcuni farmaci, etc.).

Qualora il bambino sia allattato esclusivamente al seno, l'eliminazione delle PLV dalla dieta della nutrice conduce generalmente ad una remissione dei sintomi allergici. Nel latte materno è stata dimostrata infatti la presenza di tracce di PLV qualora la madre segua una dieta libera [3-5]. Nel caso in cui il latte materno sia indisponibile o insufficiente, si rende necessaria la scelta di una formula alternativa, che dovrebbe idealmente possedere caratteristiche di:

- ipo- o anallergenicità;
- non cross-reattività con il latte vaccino (LV);
- adeguatezza nutrizionale: a tale riguardo va considerato che nei primi due anni di vita (ed in particolare nel primo anno) il latte vaccino, pastorizzato o in formula adattata, e i suoi derivati rappresentano gli alimenti con cui il bambino soddisfa almeno la metà del suo fabbisogno energetico e nutrizionale; essi rappresentano inoltre la principale fonte di calcio alimentare, il cui fabbisogno è molto elevato in questa fascia di età;
- palatabilità – requisito fondamentale, vista l'età dei piccoli pazienti;
- costo contenuto.

Non esiste al momento attuale la formula ideale, così come non vi è consenso internazionale su quale formula debba essere considerata di prima scelta nella terapia dell'APLV qualora il latte materno non sia disponibile.

Secondo le linee-guida delle società pediatriche europee di allergologia, gastroenterologia, epatologia e nutrizione (European Society for Pediatric Allergy and Clinical Immunology; European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition - ESPACI-ESPGHAN) le formule di prima scelta per la terapia dell'APLV sono rappresentate dagli idrolisati estensivi di proteine del LV o dalle formule a base di aminoacidi [6]. Secondo il Sottocomitato per la Nutrizione e le Malattie Allergi-

1 Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino

2 Cattedra di Neonatologia, Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza dell'Università di Torino

3 Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari – CNR Sezione di Torino

che dell'American Academy of Pediatrics (AAP) invece è ammesso l'uso delle formule a base di proteine intere della soia come trattamento iniziale dell'APLV IgE-mediata, in lattanti di età superiore ai 6 mesi; esse sono invece sconsigliate nei casi di enterocolite e proctolite non IgE-mediata [7].

#### **Idrolisati estensivi di proteine del LV**

Gli idrolisati proteici estensivi (extensively hydrolysed formulae - eHF) di LV, derivano dall'idrolisi "spinta" della caseina e/o delle sieroproteine di LV. Un'attività allergenica residua sia in vitro sia in vivo è stata dimostrata in tutte queste formule [9-16], per cui nessuna eHF può essere definita non allergenica. Secondo le linee guida dell'AAP, una eHF inoltre può essere definita ipoallergenica e come tale può essere utilizzata nella terapia dell'APLV solo se tollerata da almeno il 90% dei soggetti dimostratamente allergici alle PLV (intervallo di confidenza del 95%) all'interno di rigorosi trials clinici [7]. Secondo i parametri indicati dall'AAP, solo tre formule a idrolisi estensiva attualmente in commercio nel mondo (due statunitensi e una europea) rispondono ai requisiti indicati [2]. Il fatto poi che una eHF sia tollerata su base statistica dal 90% dei soggetti con APLV non esclude che essa possa indurre in un sottogruppo di pazienti reazioni cliniche anche gravi, come riportato in letteratura [17,18]. Per questa ragione l'ESPACI (Position Paper del 1993) e l'AAP [7] consigliano di saggiare la sensibilità individuale verso le eHF mediante esecuzione di prick-by-prick con una goccia di formula ricostituita e - in caso di positività - mediante challenge ospedaliero. Per quanto riguarda l'adeguatezza nutrizionale delle eHF, i risultati degli studi clinici sono contraddittori [19] e mancano studi prospettici a lungo termine. Ciononostante, la maggior parte degli Autori ha dimostrato che esse sono in grado di garantire un adeguato accrescimento staturale-ponderale [19-21]. La palatabilità delle formule idrolisate è scarsa, essendo inversamente proporzionale al grado di idrolisi. Mentre nei primi mesi di vita questo non rappresenta generalmente un problema, nelle età successive il sapore sgradevole e il retrogusto amaro possono causare una scarsa o nulla compliance all'assunzione di tali formule. Il rifiuto reiterato e categorico da parte del bambino può indurre il genitore a sostituire di propria iniziativa la formula con un prodotto di erboristeria, (ad es.

una bevanda a base di acqua di riso), erroneamente definita "latte", la cui assunzione prolungata può causare importanti squilibri nutrizionali [22]. I costi delle eHF sono elevati, per quanto inferiori a quelli delle formule a base di aminoacidi.

#### **Altri idrolisati estensivi**

Esiste in commercio un'unica formula a base di idrolisato estensivo di soia e collagene suino (HS), che è stato oggetto di pochi studi in vitro [9,13,23,24], che ne hanno dimostrato un'attività antigenica residua. Non sono stati effettuati studi clinici controllati in bambini affetti da APLV, volti a valutare l'efficacia e la sicurezza dell'HS, così come mancano studi sull'adeguatezza nutrizionale di tale formula. Non è possibile pertanto trarre alcuna conclusione in merito alla validità di tale prodotto nella terapia dell'APLV.

Recentemente è stata resa disponibile in commercio una formula la cui componente proteica è costituita da proteine idrolisate di riso (RHF), la cui tollerabilità clinica è stata dimostrata in tre studi condotti su bambini affetti da APLV [25-27]. L'adeguatezza nutrizionale di tali formule è stata valutata in due di questi studi [26,27], con risultati non sovrapponibili e parzialmente contraddittori. La RHF è pertanto un prodotto interessante, ma sono necessari ulteriori studi su più ampie casistiche, che includano valutazioni antropometriche e biochimiche. I costi e la palatabilità di tale formula non si discostano da quelli delle eHF.

#### **Formule a base di aminoacidi**

Secondo le linee guida dell'ESPACI-ESPGHAN [6], soltanto le formule a base di aminoacidi liberi (AAF) possono essere considerate non allergeniche; in base all'esito degli studi condotti in merito alla tollerabilità clinica [16, 29-31] e alla ricerca di attività antigenica residua [20,28,29], le AAF hanno mostrato di rispondere ai requisiti di sicurezza e di ipoallergenicità codificati dall'AAP e dall'ESPACI-ESPGHAN [6,7]. Esse sono pertanto indicate nei casi più gravi di APLV e nelle allergie alimentari multiple, incluse quelle alla soia e alle eHF [32]. Dal punto di vista nutrizionale, le AAF garantiscono un normale accrescimento staturale-ponderale [20,29,30]. Sono necessari tuttavia ulteriori studi per valutarne l'adeguatezza a lungo termine. La palatabilità delle AAF è sovrapponibile a quella delle eHF, ma i costi sono notevolmente più elevati.

### **Formule a base di proteine intere di soia (SF)**

Secondo l'AAP è ammesso l'uso di tali formule in lattanti di età superiore ai 6 mesi, come trattamento iniziale dell'APLV IgE-mediata; esse sono invece sconsigliate nei casi di enterocolite, proctolite ed enteropatia non IgE-mediata [7]. L'ESPACI-ESPGHAN invece non ne raccomanda generalmente l'uso come formule di prima scelta nei bambini affetti da APLV [6]. La soia fa parte infatti degli allergeni maggiori. In base a studi controllati, un'allergia alla soia è stata riportata nel 7-14% dei bambini con APLV IgE mediata, raggiungendo un valore del 30-50% in pazienti con enterocolite o enteropatia non IgE-mediata [2,33-35]. Numerosi studi hanno documentato l'adeguatezza nutrizionale delle SF, così come un normale accrescimento staturico-ponderale e una normale mineralizzazione ossea nei nati a termine, anche qualora esse vengano utilizzate per lunghi periodi [34]. Al contrario le SF sono controindicate nei pretermine, nei quali possono causare scarso accrescimento; l'elevato contenuto in alluminio ne controindica inoltre l'uso sia in soggetti pretermine sia nei pazienti nefropatici [19,34]. Le SF hanno un contenuto in manganese sei volte superiore a quello del LV. Sono necessari studi volti a indagarne gli eventuali effetti tossici a lungo termine sul SNC, così come restano da chiarire gli effetti a lungo termine dei fitoestrogeni in esse contenuti [19,34]. A favore delle SF depongono la discreta palatabilità e i costi contenuti.

### **Latte di altri mammiferi**

Alcuni Autori hanno studiato la possibilità di usare per i bambini con APLV il latte di altre specie di mammiferi, quali bufala, capra, pecora, cavalla, asina e cammella [38,39]. Il latte di bufala ha mostrato un'ampia cross-reattività in vitro con il LV, a differenza di quanto osservato per il latte di cammella, che non ha mostrato alcuna reattività crociata in vitro con il LV [38,39]. I lattini di capra (LC) e di pecora sono controindicati nella terapia dell'APLV [6] a causa dell'ampia cross-reattività in vitro [36-38] e in vivo con le PLV [38]. A fronte delle scarse prove a favore dell'utilità del LC in soggetti affetti da APLV [39,40], prevalgono infatti gli studi a sfavore di tale utilizzo [38,41,42]. Il latte di capra inoltre è nutrizionalmente inadeguato, in quanto carente in acido folico, vitamina B6, B12 e ferro (rischio di anemia per uso prolungato); può determinare inoltre nel lattante

un eccessivo carico di soluti, a causa dell'elevato contenuto in sali minerali e proteine [42]. Il latte di cavalla è stato oggetto di uno studio in vitro e in vivo eseguito su 25 bambini con APLV IgE-mediata. È stata riscontrata una minima cross-reattività in vitro tra latte di cavalla e LV e 24 dei 25 bambini sottoposti a DBPCFC con il latte di cavalla hanno mostrato di tollerarlo clinicamente [43]. Questo tipo di latte presenta tuttavia come principale inconveniente la grande difficoltà di approvvigionamento in Europa.

Il latte di asina (DM) è più facilmente reperibile in Italia; esso è stato valutato in due studi clinici eseguiti rispettivamente su 9 [44] e 21 [45] lattanti affetti da APLV per lo più IgE-mediata, allergia alla soia e agli eHF. Il latte di asina è stato tollerato al challenge dalla totalità dei soggetti studiati; 9/9 e 18/21 hanno continuato a tollerare il latte di asina per l'intera durata del follow up (rispettivamente 15-20 mesi e 1-8 anni). Gli Autori hanno riportato in entrambi gli studi la buona palatabilità e l'adeguatezza nutrizionale di tale latte.

Scopo del nostro studio prospettico è stato quello di indagare la tollerabilità in vivo e in vitro, la palatabilità e l'adeguatezza nutrizionale del DM in una popolazione di 46 bambini con APLV altamente selezionati, per i quali non era disponibile alcun sostituto del LV.

### **Materiali e metodi**

Dal 1° gennaio 2003 al 31 gennaio 2004 sono stati reclutati 46 bambini (24 maschi; età range 12-149 mesi, mediana 24 mesi, media 36 mesi) affetti da APLV, per i quali il LM non era disponibile e non era possibile utilizzare alcun sostituto del LV (SF, eHF, AAF).

L'età alla prima osservazione era compresa tra 1-146 mesi (mediana 12.5 mesi). I sintomi alla prima osservazione erano cutanei (dermatite atopica, AD, 37/46; orticaria/angioedema 2/46) e/o gastrointestinali (GI - 30/46); in particolare, 19/46 presentavano sintomi GI di particolare gravità (4/46 esofagite o gastroenterocolite eosinofila, 7/46 enteropatia allergica, 7/46 malattia da reflusso gastroesofageo e 1/46 enterocolite allergica); 11/46 presentavano uno scarso accrescimento ponderale, in tutti i casi tranne uno associato a AD. Cinque bambini avevano presentato reazioni allergiche alle PLV di tipo anafilattico. Tranne che in questi ultimi 5 casi, la diagnosi di APLV è stata posta in base ad una dieta di eliminazione delle PLV (2-4 settimane), se-

guita dal challenge in doppio cieco vs placebo (DBPCFC). Prima del challenge (FC) sono stati eseguiti i test cutanei per il LV e sono state dosate le IgE specifiche circolanti per le PLV (UNICAP Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Sweden).

Tra la prima osservazione e il reclutamento nello studio, 35 dei 46 bambini (76%) hanno presentato un'allergia alla soia, confermata dal DBPCFC. I restanti 11 già alla prima osservazione presentavano sintomi GI per i quali l'uso della SF era controindicato. Per nessuno dei pazienti era pertanto possibile utilizzare una SF come sostitutiva del LV al momento del reclutamento, così come non era possibile utilizzare né gli eHF né gli AAF: sette dei 46 bambini (15%) non tolleravano infatti gli eHF e rifiutavano gli AAF e i restanti 39 categoricamente e sistematicamente rifiutavano l'assunzione di entrambi.

Il 75% (35/46) dei bambini era affetto inoltre da altre allergie alimentari (AA), per lo più alle proteine del grano, dell'uovo e del pesce; un terzo di essi era anche allergico al riso.

E' stato pertanto ottenuto il consenso informato da parte dei genitori all'inserimento del loro bambino nello studio.

Il DBPCFC per il DM è stato eseguito in un lasso di tempo variabile da 15 gg a 3 mesi dall'ultimo FC per il LV. In caso di negatività della prova, il DM veniva inserito nella dieta del bambino, che era sempre bilanciata dalle nostre dietiste in base ai fabbisogni per l'età. Il disegno dello studio prevedeva un follow-up clinico e auxologico, con valutazioni a distanza di 1 mese ( $T_1$ ), 2-3 mesi ( $T_2$ ), 4-6 mesi ( $T_3$ ), 7-12 mesi ( $T_4$ ), 13-18 mesi ( $T_5$ ) e 18-24 mesi ( $T_6$ ) di assunzione del DM. Per ciascun paziente è stato definito come  $T_{1\text{end}}$  l'ultimo bilancio clinico e auxologico, corrispondente al momento in cui il bambino cessava di assumere il DM ed usciva pertanto dallo studio. Per tutta la durata dello studio i genitori hanno tenuto un diario alimentare, in cui riportavano in particolare il quantitativo di DM quotidianamente assunto dal bambino. Sono stati calcolati ad ogni controllo lo Z-score del peso (WA) e della lunghezza/altezza (LA) per l'età e le variazioni di Z-score sono state poi confrontate mediante il paired t-test.

E' stato valutato per tutti i soggetti il grado di cross-reattività delle IgE specifiche (sIgE) per le PLV con le proteine del DM (DMP) mediante immunoblotting [46], utilizzando come controlli i sieri di bambini con AD ma non affetti da APLV.

## Risultati

Al reclutamento per lo studio, 33 (71.7%) bambini, SPT e/o RAST positivi per le PLV, erano affetti da una APLV IgE-mediata; in particolare, 29 (63%) erano SPT positivi per il LV, con diametri di pomfo variabili da 3 mm a 18 mm, e 30 (65.2%) erano RAST positivi (sIgE > 0.35 KU/L) per le PLV (27 per la caseina, 22 per l' $\alpha$ -lattalbumina e 26 per la  $\beta$ -lattoglobulina). I rimanenti 13, SPT e RAST negativi per le PLV, erano affetti da una APLV non-IgE mediata. Questi ultimi hanno presentato tutti sintomi GI (con o senza AD) sia al FC con il LV, sia alla prima osservazione.

Il FC per il DM è risultato positivo in 8 bambini (17.4%), mentre i rimanenti 38 (82.6%) hanno gradito e tollerato il DM al FC e per tutta la durata del f.up. Il periodo di assunzione del DM è stato compreso tra 1 e 30 mesi (mediana 8, media 8.8). Il DM è stato tollerato da tutti i 13 bambini con APLV non IgE-mediata e da 26 dei 33 (78.8%) con APLV IgE-mediata. In particolare, soltanto uno dei 5 bambini (20%) con pregressa anafilassi da APLV ha tollerato il DM. Degli 11 bambini intolleranti all'eHF, solo 1 non ha tollerato anche il DM.

Soltanto 5 (62.5%) degli 8 bambini che hanno reagito al DM erano sensibilizzati a quest'ultimo (SPT positivi, con diametri di pomfo variabili dai 7 ai 35 mm) e tutti e cinque hanno presentato reazioni immediate al FC, nessuna delle quali pericolosa per la vita (5/5 positività al challenge labiale, associata in 2/5 ad orticaria/angioedema). I rimanenti 3, SPT-negativi al DM, hanno presentato lievi reazioni (2 casi: vomito e/o diarrea dopo 2 ore; un caso: riesacerbazione della AD, accompagnata da dolori addominali e diarrea a distanza di 7 giorni dall'inizio della prova). In 3 casi infine il FC per il DM è risultato negativo, nonostante la SPT positività per il DM: in nessuno di essi il diametro di pomfo superava i 5 mm.

Trentatré bambini (18 maschi) hanno assunto regolarmente il DM (200-500 ml/die a seconda dell'età) per un periodo variabile dai 2 ai 30 mesi (mediana 8, media 10); il confronto tra le variazioni medie dello Z-score per il peso ha mostrato un trend significativamente in ascesa tra il  $T_0$  e rispettivamente il  $T_1$ ,  $T_3$ ,  $T_4$  e  $T_5$ ; lo stesso confronto eseguito per la lunghezza/altezza ha mostrato un trend significativamente in ascesa tra il  $T_0$  e il  $T_1$ ,  $T_3$ . Tutti i bambini con uno Z-score per il peso al  $T_0$  inferiore alle -2 SD hanno mostrato un progressivo incremento in Z-

score durante i primi tre mesi del f.up (tra  $T_0$  e  $T_1$ : -2.34 vs -2.16,  $p=0.001$ ; tra  $T_1$  e  $T_2$ : -2.16 vs -2.00,  $p=0.048$ ).

All'immunoblotting i sieri dei pazienti RAST positivi per le PLV hanno mostrato tutti una chiara reattività nei confronti di queste ultime (caseina,  $\alpha$ -LA e  $\beta$ -LG). I sieri hanno mostrato invece una debole e aspecifica reattività per le DMP, indipendentemente dal fatto che il paziente avesse avuto o no una reazione al FC per il DM.

### Discussione

Questo è il primo studio prospettico che indaga in vitro e in vivo l'efficacia del latte di asina in bambini di età  $\geq 12$  mesi, allergici alle PLV e altamente problematici, per i quali era di fondamentale importanza reperire un alimento sostitutivo al LV. Il DM si è dimostrato nei ns pazienti un'alternativa valida in termini di tollerabilità clinica (82.6%), pur non raggiungendo il valore del 90%, indicato dall'AAP come quello che consente di definire "ipoallergenica" una formula alternativa al LV [7]. La nostra casistica tuttavia era costituita da un campione altamente selezionato di pazienti, non rappresentativo dell'intera popolazione di allergici al LV. E' importante sottolineare che il DM, in accordo con quanto già osservato da Iacono et al [44] e Carroccio et al [45], è stato tollerato dalla pressochè totalità dei bambini intolleranti all'eHF (10/11, 91%). In una recente review, Muraro [34] suggerisce che il DM potrebbe essere considerato una possibile alternativa al LV nei pazienti con una APLV IgE-mediata. Nel nostro studio, il DM è stato tollerato dal 78.8% (26/33) dei bambini con APLV IgE-mediata; dei 5 pazienti con pregressa anafilassi da APLV peraltro soltanto uno ha tollerato il DM, mentre gli altri quattro hanno presentato tutti una positività al challenge labiale e due hanno poi manifestato sintomi sistemici. Pur non potendo trarre conclusioni definitive in merito all'intera popolazione di bambini con pregressa anafilassi da APLV, l'uso del DM in questi soggetti deve essere valutato con estrema cautela e l'introduzione deve avvenire sempre in ospedale.

Il DM è stato tollerato da tutti i bambini con APLV non IgE-mediata. E' importante stressare che tutti questi pazienti erano affetti da forme GI di APLV (con o senza AD), alcune delle quali con malassorbimento.

Il DM si è dimostrato valido anche dal punto di vista della palatabilità: tutti i ns pazienti lo hanno tro-

vato gradevole e lo hanno assunto volentieri. Erano bambini particolarmente esigenti da questo punto di vista, in quanto di età  $\geq 12$  mesi, per lo più costretti a diete monotone e ripetitive; alcuni di essi avevano assunto per mesi o anni gli eHF o gli AAF, per poi rifiutarsi categoricamente di continuare a berli.

Tutti i bambini hanno mostrato un buon incremento staturale-ponderale, con un aumento significativo degli Z-score per entrambi i parametri nella maggior parte di essi.

La debole e aspecifica reattività delle IgE dei pazienti vs le DMP non ha permesso di identificare le proteine cross-reattive tra DM e LV. Poiché l'immunoblotting evidenzia soltanto gli epitopi lineari, si può ipotizzare che la reattività crociata in vivo tra i due latte sia dovuta per lo più a epitopi conformazionali.

### Conclusioni

I risultati più che incoraggianti del nostro studio (che è ancora in corso e che attualmente vede raddoppiata la casistica iniziale) necessitano di ulteriori conferme su più ampie casistiche, eventualmente sulla popolazione generale dei pazienti con APLV. Sarebbe necessaria però una maggiore e più facile reperibilità di questo latte, contestualmente ad un costo più basso (che oggi in Italia si situa a metà tra gli eHF e le AAF). Poiché tale alimento sarebbe inoltre destinato ad una popolazione di bambini allergici, tutta la linea produttiva dovrebbe sottostare a rigorose norme e controlli non soltanto di tipo igienico-sanitario, ma anche e soprattutto di tipo allergologico, secondo la normativa CEE in merito agli allergeni.

### References

- Sampson HA. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113:805-19.
- Høst A, Halken S. Hypoallergenic formulas – when, to, whom and how long: after more than 15 years we know the right indication! *Allergy* 2004; 59 (78): 45-52.
- Høst A, Husby S, Hansen LG, Osterballe O. Bovine beta-lactoglobulin in human milk from atopic and non-atopic mothers. Relationship to maternal intake of homogenized and unhomogenized milk. *Clin Exp Allergy* 1990; 20: 383-7.
- Jakobsson I, Lindberg T, Benediktsson B, Hansson BG. Dietary bovine beta-lactoglobulin is transferred to human milk. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74: 342-5.

- Cant A, Marsden RA, Kilshaw PJ. Egg and cow's milk hypersensitivity in exclusively breast fed infants with eczema, and detection of egg protein in breast milk. *Br Med J* 1985; 291: 932-5.
- Host A, Koletzko B, Dreborg S, Muraro A, Wahn U et al. Dietary products used in infants for treatment and prevention of food allergy. Joint Statement of the European Society for Pediatric Allergology and Clinical Immunology (ESPACI) Committee on Hypoallergenic Formulas and the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. *Arch Dis Child* 1999; 81:80-4.
- American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Hypoallergenic Infant Formulas. *Pediatrics* 2000;106:346-9.
- Van Hoeyveld EM, Escalona-Monge M, De Swert LFA, Stevens EAM. Allergenic and antigenic activity of peptide fragments in a whey hydrolysate formula. *Clin Exp Allergy* 1998; 28:1131-7.
- Wahn U, Wahl R, Rugo E. Comparison of the residual allergenic activity of six different hydrolysed protein formulae. *J Pediatr* 1992; 121: S80-4.
- Ragno V, Giampietro PG, Bruno g, Businco L. Allergenicity of milk proteins hydrolysate formulae in children with cow's milk allergy. *Eur J Pediatr* 1993; 152: 760-2.
- Van Berensteyn ECH, Meijer RJGM, Schmidt DG. Residual antigenicity of hypoallergenic infant formulae and the occurrence of milk specific IgE antibodies in patients with clinical allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:365-74.
- Restani P, Plebani A, Velonà T, Cavagni G, Ugazio AG, Poiesi C. Use of immunoblotting and monoclonal antibodies to evaluate the residual antigenic activity of milk protein hydrolysed formulae. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 1182-7.
- Makinen-Kiljunen S, Sorva R. Bovine betalactoglobulin levels in hydrolyzed protein formulae for infant feeding. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 287-91.
- Sampson HA, Bernhisel-Broadbent JB, Yang E, Scanlon SM. Safety of casein hydrolysate formula in children with cow's milk allergy. *J Pediatr* 1991;118:520-5.
- Giampietro PG, Kjellman NI, Oldaeus G, Wouters-Wesseling W, Businco L. Hypoallergenicity of an extensively hydrolyzed whey formula. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 12: 83-6.
- Hill DJ, Cameron DJS, Francis DEM, Gonzales-Andaza AM, Hosking CS. Challenge confirmation of late-onset reactions to extensively hydrolyzed formulae in infants with multiple food protein intolerance. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:386-94.
- Saylor JD, Bahna SL. Anaphylaxis to casein hydrolysate formula. *J Pediatr* 1991; 118: 71-4.
- Businco L, Cantani A, Longhi MA, Giampietro PG. Anaphylactic reactions to a cow's milk whey protein hydrolysate (Alfa-Re, Nestlè) in infants with cow's milk allergy. *Ann Allergy* 1989; 62: 333-5.
- Moro GE, Warm A, Arslanoglu S, Miniello V. management of bovine protein allergy: new perspectives and nutritional aspects. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 89: 91-6.
- Isolauri E, Sutas Y, Makinen-Kiljunen S, Oja SS, Isosomppi R, Turjanmaa K. Efficacy and safety of hydrolyzed cow's milk and amino acid-derived formulas in infant with cow's milk allergy. *J Pediatr* 1995; 127: 550-7.
- Verwimp JJ, Bindels JG, Barents M, Heymans HS. Symptomatology and growth in infants with cow's milk protein intolerance using two different whey-protein hydrolysate based formulas in a Primary Health Care setting. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49: S39-48.
- Carvalho NF, Kenney RD, Carrington PH, Hall DE. Severe nutritional deficiencies in toddlers resulting from health food milk alternatives. *Pediatrics* 2001; 107:46.
- Restani P, Velonà T, Plebani A, Ugazio AG, Poiesi C et al. Evaluation by SDS-PAGE and immunoblotting of residual antigenic activity in hydrolysed protein formulae. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 651-8.
- Niggemann B, Binder C, Klette U, Wahn U. In vivo and in vitro studies on the residual allergenicity of the partially hydrolyzed infant formulae. *Acta Paediatr* 1999; 88: 394-8.
- Fiocchi A, Travaini M, D'Auria E, Banderali G et al. Tolerance to a rice formula in children allergic to cow's milk and soy. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:1576-1580
- D'Auria E, Sala M, Lodi F, Radaelli G, Riva E, Giovannini M. Nutritional value of a rice-hydrolysate formula in infants with cow's milk protein allergy : a randomized pilot study. *J Int Med Res* 2003; 31: 215-22.
- Savino F, Castagno E, Monti G, Serraino P, Pel-

- tran A, et al. Z-score of weight for age of infants with atopic dermatitis and cow's milk allergy fed with a rice-hydrolysate formula during the first two years of life. *Acta Paediatr Suppl.* 2005 Oct;94(449):115-9.
- Plebani A, Restani P, Naselli A, Galli CL, Meini A et al. Monoclonal and polyclonal antibodies against casein components of cow milk for evaluation of residual antigenic activity in "hypoallergenic" infant formulas. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 949-56.
  - Sampson HA, James JM, Bernhisel-Broadbent J. Safety of an amino acid-derived infant formula in children allergic to cow milk. *Pediatrics* 1992;90:463-5.
  - Isolauri E, Sutas Y, Salo MK, Isosomppi R, Kaila M. Elimination diet in cow's milk allergy: risk for impaired growth in young children. *J Pediatr* 1998; 132: 1004-9.
  - De Boissieu D, Matarazzo P, Dupont C. Allergy to extensively hydrolyzed cow milk proteins in infants: identification and treatment with an aminoacid-based formula. *J Pediatr* 1997; 131:744-7.
  - Walker-Smith J. Hypoallergenic formulas: are they really hypoallergenic? *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90:112-4.
  - Zeiger RS, Sampson HA, Bock SA et al. Soy allergy in infants and children with IgE-mediated cow's milk allergy. *J Pediatr* 1999;134:614-22.
  - Muraro MA, Giampietro PG, Galli E. Soy formulas and nonbovine milk. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 89: 97-101.
  - Cordle CT. Soy protein allergy: incidence and relative severity. *J Nutr* 2004; 134: 1213-9.
  - Restani P, Beretta B, Fiocchi A, Ballabio C, Galli CL. Cross-reactivity between mammalian proteins. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 89: 11-5.
  - Restani P, Gaiaschi A, Plebani A, Beretta B, Cavagni G et al. Cross-reactivity between milk proteins from different animal species. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 997-1004.
  - Bellioni-Businco B, Paganelli R, Lucenti P, Giampietro PG, Perborn H, Businco L. Allergenicity of goat's milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1191-4.
  - Infante PD, Tormo CR, Conde ZM. Use of goat's milk in patient with cow's milk allergy. *An Pediatr (Barc)* 2003; 59: 138-42.
  - Freund G. Use of goat milk for infant feeding: experimental work at Creteil (France). In: *Proceeding of the meeting "Interets nutritionelle et dietetique du lait de chèvre"*. Niort, France: INRA 1996; 119-21.
  - Pessler F, Nejat M. Anaphylactic reaction to goat's milk in a cow's milk – allergic infant. *Pediatr Allergy immunol* 2004; 15:183-5.
  - Restani P. Goat milk allergenicity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 39:323-4.
  - Businco L, Giampietro PG, Lucenti P, Lucaroni F, Pini C, Di Felice G et al. Allergenicity of mare's milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:1031 – 4.
  - Iacono G, Carroccio A, Cavataio F, Montalto G, Soresi M, Balsamo V. Use of ass'milk in multiple food allergy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992; 14 (2): 177-81
  - Carroccio A, Cavataio F, Montalto G, D'Amico D, Alabrese L, Iacono G. Intolerance to hydrolysed cow's milk proteins in infants: clinical characteristics and dietary treatment. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1597-1603.
  - Natale M, Bisson C, Monti G, et al. Cow's milk allergens identification by two-dimensional immunoblotting and mass spectrometry. *Mol Nutr Food Res* 2004;48:363-369.

# Valutazione del benessere animale

DANIELA BEGHELLI

*Dipartimento di Scienze Ambientali  
Università degli Studi di Camerino*

## Abstract

Animal welfare has emerged as a significant international public policy issue over the last two to three decades. The debate regarding the role of animal welfare in international trade has also attracted considerable attention, in political and policy circles, since the conclusion of the Uruguay Round in 1994 and the formation of the World Trade Organisation (Bayvel A. C. D., 2004; RSPCA, 1998). In recognition of the increasing scientific, political and public attention being given to animal welfare, the topic including food safety and animal welfare was identified as an important emerging issue during the preparation of the 2001–05 OIE third strategic plan (Bayvel A.C.D., 2004). Being a critical relationship between animal health and animal welfare and a strong relationship between animal health and food safety; the animal welfare assessment should represent an additional value to the quality and safety food. People no longer need to pursue simply the cheapest possible food products but seek additional various ‘quality’ characteristics (including safety, origin and environmental provenance) of which animal welfare standards is one. Furthermore, improvements in farm animal welfare can often improve productivity and hence lead to economic benefits. Part of a multidisciplinary approach to animal well-being must include immune status and here the evaluation of some parameters of the innate immune response is proposed as a model to estimate the status of welfare in a long term analysis of the farm management.

## Introduzione

Il benessere animale è diventato argomento di rilevanza politica pubblica internazionale negli ultimi venti, trenta anni. E’, infatti, a seguito della chiusura del Round tenutosi in Uruguay nel 1994, terminato con la formazione del World Trade Organisation (Bayvel A. C. D., 2004; RSPCA, 1998), che il dibattito sul ruolo del benessere animale nel commercio

internazionale ha attratto considerevole attenzione tanto nelle politiche attuali che nella determinazione degli indirizzi politici futuri. Non deve, pertanto, sorprendere che, proprio in risposta all’aumentato interesse scientifico, politico e sociale che si è venuto a determinare nei confronti dello stato di benessere animale, i temi della sanità degli alimenti e del benessere animale siano stati considerati importanti questioni emergenti nella preparazione del terzo piano strategico 2001-05 dell’OIE (Bayvel A.C.D., 2004).

Tradizionalmente, l’allevamento zootecnico è sempre stato visto come una forma di impresa indipendente, in grado di fondere l’uomo, gli animali e la natura. Con la rivoluzione del mondo agrario, le produzioni animali sono state percepite, correttamente od erroneamente, come attività più industrializzate, tecnologiche e legate a logiche imprenditoriali. Questo cambio di percezione sociale ha dato luogo ad una maggiore selezione etica nelle produzioni alimentari ed una crescente domanda di standard a cui conformare le produzioni zootecniche (D. Fraser, 2004). Il desiderio di riuscire a “fotografare” lo stato di benessere o malessere dell’animale, del resto, non è nuovo; a tutt’oggi questo obiettivo non è stato raggiunto e questo dipende dalla natura stessa delle caratteristiche che risultano importanti per determinare, tanto nell’uomo che nell’animale, lo stato di benessere. Gli stati emozionali, come l’essere spaventato, ansioso, felice ed altri stati soggettivi quali quelli della percezione del dolore sono tali da non poter venire misurati in maniera precisa ed accurata. La “quantificazione” dello stato di benessere, pertanto, ha eluso gli sforzi scientifici. La necessità di riuscire a comprendere, comunque, lo stato di benessere animale è così forte che gli sforzi scientifici continuano verso il perseguimento di questo obiettivo. Attualmente le ricerche scientifiche si concentrano nella valutazione dello stato di benessere, che è cosa ben diversa dal riuscire a misurare lo stesso. La valutazione, infatti, implica la stima di qualcosa e ciò non equivale alla misurazione della stessa; misurare significa, invece, riuscire a comparare i nostri riscontri ad uno standard (D. C. Lay, 2003). Nondimeno, è necessario riconoscere e comunicare che gli standard del benessere hanno tanto una base scientifica che una base filosofica (D. Fraser, 2004).

Esistono, infatti, 3 filosofie di approccio alla valutazione del benessere animale:

- 1) tramite valutazione delle funzioni biologiche degli animali (Biological functioning): in questo caso gli scienziati vedono, nella valutazione delle caratteristiche produttive (per es: incremento ponderale, mortalità, fecondità, fertilità, assenza di malattia) una via da seguire per migliorare lo stato di benessere animale.
- 2) tramite valutazione degli stati affettivi/sensitivi (Affective states): secondo questo approccio, condiviso da alcuni ricercatori che si occupano prevalentemente di benessere animale e da un comune sentire del pensiero umanitario, viene data particolare enfasi allo stato affettivo degli animali (dolore, sofferenza ed altri stati emozionali). In questo caso gli standard che dovrebbero assicurare il benessere animale dovrebbero risparmiare all'animale qualsiasi stato sgradevole e permettere, invece, un normale stile di vita, sia che si tratti di allevamenti intensivi od estensivi.
- 3) tramite valutazione dei comportamenti naturali (Natural living): gli scienziati hanno provato a migliorare il benessere animale fornendo agli stessi la possibilità di condurre uno stile di vita il più possibile vicino a quello naturale, in un ambiente dove possano esprimere i loro comportamenti e dove possano muoversi liberamente, senza restrizioni ingiustificate. Questo punto di vista è condiviso dai consumatori e da quanti criticano i moderni sistemi di allevamento (te Velde et al., 2002). Secondo quanti sostengono questo punto di vista, gli standard di benessere dovrebbero escludere il confinamento degli animali, per lunghi periodi, in spazi dove non possano esprimere il loro naturale comportamento.

Tutti questi approcci non si escludono vicendevolmente; anzi, probabilmente, sarebbe auspicabile un approccio bilanciato tra questi tre poli culturali/filosofici.

Secondo quanto stabilito dalla UK Farm Animal Welfare Council (Webster, A. J. F., 2001), per il benessere di ogni animale tenuto in cattività, è necessario garantire cinque libertà: 1) libertà dalla fame e dalla sete; 2) libertà da stress termici o fisici; 3) libertà dal dolore, ferite e malattie; 4) libertà dalle paure e stress eccessivi; 5) libertà di poter esprimere il proprio comportamento naturale.

Per il raggiungimento di molte di queste indicazioni, nel caso degli allevamenti di asini, è necessario

seguire il comune buon senso, visto che non esistono conoscenze approfondite e specifiche dei loro bisogni e fabbisogni. La maggior parte di lavori/studi riguardanti l'alimentazione della specie equina, per esempio, hanno per oggetto i cavalli sportivi; mentre quelli che riguardano l'alimentazione degli animali da lavoro sono focalizzati sui ruminanti. Gli asini, però, differiscono da entrambi questi gruppi di animali e, sebbene esista qualche lavoro che esplora queste differenze (Pearson & Merritt 1991; Pearson, Cuddeford, Archibald & Muirhead 1992), sarebbe auspicabile una ricerca più mirata sui fabbisogni degli asini.

Nel mondo esistono circa 44,3 milioni di asini e questo numero ha subito un incremento del 15,6 % dal 1981 (FAO, 1992).

Un piccolo numero di asini vive nel mondo occidentale dove viene visto come pets, animale da compagnia per i cavalli ed impiegato nell'onoterapia e per la produzione di latte.

Il 95% degli asini presenti nel mondo, comunque, vive nelle aree in via di sviluppo dove questi animali vengono impiegati essenzialmente come animali da lavoro. Essi provvedono, infatti, al trasporto di cose e persone e vengono spesso impiegati nei lavori di campo (aratura, mondata etc). Nonostante il notevole contributo che da sempre hanno fornito alla società, si sa veramente poco sugli asini. Finora sono stati sempre considerati meno di qualsiasi altra specie di bestiame ed il benessere gli è stato spesso negato. C'è, quindi, forse più che in altre specie, un forte bisogno di ricerca di base sul comportamento degli asini quando si trovano sotto gestione dell'uomo, che dovrebbe scaturire dallo studio del comportamento degli animali inselvaticiti. Risulterebbero molto interessanti anche le ricerche che riguardano gli effetti di un buon o cattivo management e di diversi tipi di lavoro sul comportamento e temperamento degli animali. Se, però, risulta facile comprendere quanto potrebbero diventare utili questo tipo di ricerche per migliorare il management e benessere degli asini, altrettanto facile dovrebbe risultare il comprendere che il "mondo occidentale" si dovrebbe fare carico di questo tipo di studi. Come già detto, il concetto di benessere animale non è né nuovo né prerogativa del mondo occidentale, ma esso rappresenta materia di discussione soprattutto nel nord d'Europa. Lì dove la diffusione dell'asino continua ad essere maggiore, però, non è pensabile di cercare di migliorare il benessere animale senza che la ricerca sia strettamente

connessa al benessere della popolazione la cui sussistenza dipende proprio da questi animali.

### **Indicatori di benessere nell'asino**

Anche in questa specie, gli indicatori di benessere potrebbero risultare utili per monitorare gli effetti di un cambio di tipologia/carico di lavoro o di gestione dell'allevamento. Un indicazione di stato di benessere fisico potrebbe senz'altro derivare da una valutazione clinica dell'animale, nonché dal body condition score. Risulterebbe senz'altro un utile indicatore di benessere anche una buona conoscenza del comportamento degli asini tale da permettere di interpretare i segni di "discomfort" o disagio. Il comportamento di un asino da lavoro, infatti, varia al variare della tipologia di lavoro così come del tipo di allevamento. Sebbene gli asini sembrino presentare una buona capacità di adattamento, non si conosce fino a che punto riescano a compensare il cambiamento tramite una modificazione del proprio comportamento né quanto stressante gli risulti questo adattamento.

Se si dovesse seguire un approccio multi-disciplinare alla questione del benessere animale non si dovrebbe, comunque, prescindere dalla valutazione di funzionalità del sistema immunitario.

**Valutazione di funzionalità del sistema immunitario innato** - La definizione base di risposta immunitaria indica la capacità dell'organismo di resistere a particolari malattie grazie alla possibilità che il sistema immunitario fornisce di impedire lo sviluppo di qualche microrganismo patogeno o tramite l'annullamento degli effetti nocivi dei loro prodotti. E', tuttavia, ben noto che lo spettro d'azione del sistema immunitario è ben più ampio.

La risposta immunitaria si può suddividere in specifica ed aspecifica od innata. La prima fa seguito ad un precedente contatto con il patogeno o l'antigene. La seconda, invece, si caratterizza per il fatto che non richiede che ci sia stato un precedente contatto con l'antigene. I meccanismi innati di difesa includono alcuni prodotti di secrezione (per es. ac. gastrico, lisozima), barriere meccaniche (pelle, mucosa), cellule infiammatorie, alcune funzioni fisiologiche (riflesso della tosse, movimenti ciliari ecc.), un gruppo di proteine ematiche definite componenti non specifiche del sistema immunitario innato (o proteine di fase acuta: negative e positive quali albumina, ceruloplasmina, proteina C reattiva, aptoglobina, siero amiloide A, fibrinogeno, a1-glicoproteina acida),

nonché il sistema del complemento e l'attività battericida del siero. I neutrofili, inoltre, rivestono, un ruolo cardine nella risposta innata. La prima risposta immunitaria agli stressors, infatti, si estrinseca attraverso un aumentato numero di neutrofili circolanti, a cui fanno seguito le variazioni di fenotipo dei linfociti, le modificazioni dello stato di attivazione o soppressione di alcune cellule e l'attivazione della risposta di fase acuta.

La risposta di fase acuta viene innescata a seguito dell'interazione tra antigene e recettori toll-like (TLR); questi ultimi sono molecole di riconoscimento che identificano il patogeno ed iniziano una risposta immunitaria appropriata. A questo punto si innesca una cascata di segnali tra cellule che culmina con il rilascio di alcune citochine di fase acuta quali l'interleuchina-1 (IL-1), IL-6, il fattore alfa di necrosi tumorale (TNF) e l'interferone. Queste citochine, insieme ai glucocorticoidi, stimolano il rilascio di proteine di fase acuta da parte del fegato e queste ultime hanno una varietà di funzioni fisiologiche ed omeostatiche. Il risultato finale d'azione di queste proteine è quello di indurre i neutrofili alla fagocitosi ed uccisione del patogeno.

In questa sede si intende proporre, nell'analisi sia a breve che a lungo termine della gestione dell'allevamento, la determinazione di alcuni parametri dell'immunità innata quale modello di valutazione, anche negli asini, dello stato di benessere; in particolare, si propongono: 1) la titolazione del lisozima sierico; 2) la determinazione dell'attività battericida e 3) la titolazione semiquantitativa del complemento emolitico. Un approccio immunologico di questo tipo, infatti, fornisce parametri obiettivi, non richiede tempi prolungati di osservazione né l'impiego prolungato di personale specializzato in azienda, risente scarsamente delle turbative legate alla manualità di prelievo del campione e lo stesso può essere utilizzato anche per altri scopi, infine, fornisce dati predittivi sulla possibile evoluzione di condizioni di scarso benessere verso patologie clinicamente conclamate.

Il conoscere i valori di riferimento di questi parametri per singola specie animale rappresenta, comunque, un passaggio obbligato e prioritario per poter correttamente interpretare l'alterazione degli stessi a seguito non solo di patologie, ma anche di situazioni diverse che possono perturbare lo stato di benessere animale.

**Titolazione del Lisozima sierico** - Il lisozima è normalmente presente nei fagociti (macrofagi e neu-

trofili), nelle lacrime, nel latte, nel secreto nasale e nella saliva, dove compare in quantità maggiori rispetto al siero ematico. Pur essendo efficace su germi patogeni come stafilococchi e pneumococchi, la sua massima azione litica la esprime nei confronti del *micrococcus lysodeikticus*. La concentrazione del lisozima nel siero viene mantenuta principalmente dai neutrofili in degenerazione e la sua determinazione ci permette di conoscere l'attività dei granulociti e lo stato di funzionalità del sistema monocitico/macrofagico, indicandoci la presenza di stati infiammatori. Il test viene eseguito secondo la metodica di Osserman & Lawlor (1996). I campioni di siero vengono posti a contatto con una sospensione di *Micrococcus Lyso-deikticus*, incorporato in un gel di agar. La concentrazione di lisozima nel campione, espressa in g/ml, si ricava dalla curva standard ottenuta riportando i valori del diametro dell'anello di chiarificazione in funzione delle concentrazioni note di lisozima.

**Battericidia** - L'attività battericidica del siero rappresenta un parametro molto importante per saggiare la capacità del siero di inibire la crescita batterica grazie alla presenza non solo di fattori del complemento, ma anche di modeste concentrazioni di anticorpi naturali. Questo parametro generalmente è uno dei primi ad alterarsi in caso di sfavorevole pressione ambientale. La battericidia sierica viene determinata mediante un micrometodo basato sulla determinazione della variazione di densità ottica (DO) tramite spettrofotometro, prima e dopo incubazione di un ceppo di *E. coli* diluito  $10^{-2}$  (isolato da tamponi rettali effettuati in cavalli diversi da quelli impiegati nello studio) con il siero da saggiare (Amadori et al., 1997). La metodica, qui modificata per la specie equina, prevede due fasi: la prima riguarda la preparazione e l'espansione del ceppo di *E. coli*, la seconda consiste nel test vero e proprio. In breve, dopo incubazione di *E. coli* su terreno BHI (Brain Heart Infusion) per 18–24 ore a  $37^{\circ}\text{C}$ , si centrifuga a 10000rpm a  $4^{\circ}\text{C}$  per 30 minuti e si recupera il pellet con un pari volume di latte UHT sterile. A 500 ml di questa sospensione si aggiungono 15 ml di BHI e si legge la DO a  $590\text{ nm}$ . Si attende, quindi, che *E. coli* si espanda e si procede con il seminare, nella stessa piastra a 96 pozzetti, il bianco, il controllo delle diluizioni di *E. coli* ( $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ ) ed i sieri da esaminare, addizionati di 100 ml di BHI e 50 ml di tampone Veronal. Il periodo di contatto, determinato sperimentalmente, varia in relazione alla specie presa in considerazione. Nel caso della specie equina è di 4 ore a  $37^{\circ}\text{C}$  in camera umida

(Battistacci et al., 2006). Dopo l'incubazione si ripete la lettura a  $690\text{ nm}$ . Il risultato viene espresso in % ed è espressione della capacità del siero di inibire la crescita di *E. coli*.

**Titolazione semiquantitativa del complemento emolitico** - Il sistema del complemento, attivato per via alternativa, risulta efficace verso i batteri Gram-negativi, virus, cellule neoplastiche e cellule infettate da virus (Goundasheva et al., 2002). La sua determinazione fornisce indicazioni sulla competenza immunitaria dell'animale nei confronti di patogeni ambientali; l'evidenziazione di bassi livelli di complemento indica un avvenuto consumo in vivo a seguito di stati flogistici e, quindi, un notevole coinvolgimento del sistema immunitario aspecifico con il rischio di insorgenza di patologie condizionate. Il test di titolazione semiquantitativa del complemento emolitico si basa sulla quantificazione dell'attività litica del siero nei confronti di emazie di coniglio (via alternativa di attivazione del complemento) (Barta V, Barta O., 1993). La prova, anch'essa qui modificata per la specie equina, consiste nel mettere a contatto i sieri in esame (diluiti 1:4 in tampone Veronal) con una sospensione di globuli rossi di coniglio all'1% in una piastra a 96 pozzetti (Battistacci et al., 2006). Dopo incubazione per 60 minuti a  $37^{\circ}\text{C}$  e centrifugazione per 2 minuti a 2000 rpm, 100  $\mu\text{l}$  di surnatante di ogni pozzetto vengono trasferiti in una piastra vuota e letti con spettrofotometro a  $550\text{ nm}$ . I valori vengono espressi in CH50 e sono il risultato di un'elaborazione matematica dei valori di DO relativi ai campioni aventi una DO inferiore al 100% e superiore al 10% dello standard di emolisi.

## Conclusioni

Le produzioni agro-alimentari e zootecniche debbono, viepiù oggi, essere orientate a garantire la salute del consumatore. Questo vuole il mercato, oltre che la legislatura. In virtù della relazione critica esistente tra salute animale e benessere animale e della forte connessione tra salute animale e sicurezza alimentare, il raggiungimento di un buono stato di benessere animale in allevamento dovrebbe rappresentare un valore aggiunto alla qualità e sicurezza degli alimenti.

Il consumatore non si accontenta più di acquistare il cibo più conveniente, ma va anche alla ricerca di varie caratteristiche aggiuntive (inclusa la sicurezza, l'origine e l'ambiente di provenienza) tra cui lo standard di benessere occupa un posto impor-

tante. Le condizioni di allevamento possono senz'altro influenzare lo stato di benessere degli asini; comunque, perché si riesca davvero a migliorare il welfare di questi animali è necessario che venga effettuata non solo una maggiore attività di ricerca di base su questa specie, ma che cambi anche il modo in cui si pensa di dover trattare questi animali.

Per poter realmente misurare il benessere animale bisognerebbe poter disporre degli strumenti di misura di quelli che sono gli stati mentali degli animali (Lay D.C., 2003) e questo, forse, sarà possibile in futuro; oggi, invece, la determinazione di alcuni parametri del sistema immunitario innato (Reynnells, 2003; Battistacci et al., 2006) può rappresentare un valido sistema di stima dello stato di benessere degli asini.

#### **Bibliografia consultata**

- Amadori M, Archetti IL, Frassinelli M, Bagni M, Olzi E, Caronna G, Lanterni M (1997) *J. Vet. Med. B.* 44, 321-327.
- Barta V, Barta O. (1993) In: *Vet. Cl. Imm. Lab., Bar-Lab*, Barta O., Ed. Blacksburg, Usa.
- Battistacci L, Beghelli D, Moscati L, Timi M, Valbonesi A (2006) Valori di riferimento di alcuni parametri di immunità aspecifica nel cavallo. *Atti XL S.I.S.Vet. Terrasini, Palermo*, 27-30 settembre.
- Bayvel A. C. D. (2004) The OIE animal welfare strategic initiative — Progress, priorities and prognosis. *Proceedings of Global conference on animal welfare:an OIE initiative Paris, 23–25 February.*
- te Velde, H., Aarts, N. and van Woerkum, C. (2002). 'Dealing with ambivalence: farmers' and consumers' perceptions of animal welfare in livestock breeding'. *J. Agric. Environ. Ethics*, 15, pp. 203–219.
- Eicher S. (2003) Immunological Measures of Animal Well-Being in "The Science and Ethics Behind Animal Well-Being Assessment" 28 Maggio, Editore da Richard Reynnells, USDA/CSREES/PAS.
- FAO-Food and Agriculture Organisation, United Nations (1992) *Production yearbook 46.* FAO Statistics Series No 112 p 205. FAO: Rome.
- Fraser D. (2004) Applying science to animal welfare standards. *Proceedings of Global conference on animal welfare:an OIE initiative Paris, 23–25 February.*
- Goundasheva D, Sotirov L, Chenchev I, Karadjov T, Barzev G. (2002) *Revue Med. Vet.*, 153, 569-574.
- Lay D.C. (2003) Summary of Assessment Strategies in "The Science and Ethics Behind Animal Well-Being Assessment" 28 Maggio, Editore da Richard Reynnells, USDA/CSREES/PAS.
- Osserman E.F. & Lawlor D.P. (1996) *J. Exp. Med.* 124, pp. 921- 952.
- Pearson R. A. and Merritt J. B. (1991) Intake, digestion and gastrointestinal transit time in resting donkeys and ponies and exercised donkeys given ad libitum hay and straw diets. *Equine Veterinary Journal* 23(5), pp 339-343.
- Pearson R. A., Cuddeford D., Archibald R. F. and Muirhead R. H. (1992) Digestibility of diets containing different proportions of alfalfa and oat straw in thoroughbreds, Shetland ponies, highland ponies and donkeys. *Euro. Kon. Ern. Pfer*, pp 153-157.
- RSPCA (1998). *Agenda 2000: The future for farm animal welfare in the European Union.*
- Reynnells R. (2003) In: *The Sci. and Ethics Behind Anim. Well-Being Asses, Fut. Trends in An. Agric.*, USDA, Washington, DC, 1-52.
- Webster, A. J. F. (2001). 'Farm animal welfare: the five freedoms and the free market'. *The Veterinary Journal*, 161, pp. 229–237.

# Proposte di utilizzo del latte d'asina nei controlli di alcune patologie di pertinenza geriatrica

DOMENICO D'AMICO

Medico di Medicina Generale  
presso Azienda USL 6 Palermo

GIUSEPPE IACONO, CALOGERO SCALICI,

U.O. Gastroenterologia Pediatrica P.O.  
"G. Di Cristina" Palermo

ANTONIO CARROCCIO

U.O. Gastroenterologia, Div. di Medicina Interna,  
Università di Palermo.

## Abstract

Il latte d'asina è già da tempo riconosciuto efficace trattamento terapeutico delle allergie e poliallergie alimentari in età pediatrica. Tuttavia, i più recenti studi sulla composizione quali-quantitativa del suddetto alimento, con particolare riguardo alla composizione ottimale dei grassi (basso contenuto di acidi grassi saturi ed elevato tenore di insaturi 3), oligoelementi, probiotici, fattori di crescita e di rilascio ormonale, nonché di contenuto calorico limitato, hanno permesso di postulare un suo impiego nell'alimentazione definibile "curativa" dell'anziano.

Infatti, accertato che il consumo di latte vaccino e derivati in età adulta si riduce fortemente anche a causa di disturbi gastrointestinali e, sebbene la causa più frequente si ritiene risieda frequentemente in un deficit quantitativo dell'enzima lattasi deputato alla digestione del lattosio, la presenza di una allergia alle proteine del latte vaccino in questi soggetti non può essere esclusa.

Ancora, l'osteoporosi e l'aterosclerosi, che nella popolazione generale adulta hanno elevata incidenza, vedono nella cattiva alimentazione (dieta non sufficientemente ricca di prodotti contenenti calcio la prima e ricca in grassi saturi la seconda), la causa forse più importante.

Durante la relazione si presenteranno, oltre all'analisi e la comparazione delle proprietà bio-energetiche del latte d'asina con altri latti di uso comune, razionale e schemi dei più recenti protocolli di ricerca dell'impiego del latte d'asina nella prevenzione e controllo delle sopraccitate forme morbose tipiche del-

l'età geriatrica. In particolare, si descriverà i progetti volti a valutare l'efficacia di un prolungato uso alimentare del latte di asina sui parametri densitometrici (contenuto minerale osseo) in pazienti con auto-riferita intolleranza al latte vaccino e di una eventuale influenza positiva sul profilo sierolipidico di soggetti ipercolesterolemici.

## Premessa

L'incapacità a digerire il lattosio, principale zucchero contenuto nel latte, da parte degli enzimi intestinali, specialmente in età adulta, con conseguenti disturbi gastrointestinali, inducono a limitare molto o ad abolire del tutto l'utilizzazione di latte vaccino e derivati.

Si tratta di una situazione molto frequente, in Europa la carenza di lattasi può interessare dal 10% al 60% della popolazione generale (Simoons F.J. 1978).

I pazienti lamentano dolore e tensione addominale, flatulenza e diarrea al consumo di latte e derivati. Tuttavia, recenti studi hanno rilevato che molti dei pazienti che non consumano latte e derivati per tali disturbi hanno in realtà una normale capacità a digerire il lattosio (Suarez F.L. 1995; Carroccio A. 1998).

In particolare un nostro studio sulla popolazione generale di un centro rurale siciliano, rivelava che il 15% della popolazione si "auto-definiva intollerante al latte", ma il 90% di questi soggetti si dimostrava assolutamente asintomatico dopo avere ingerito un carico di lattosio ed essere stato sottoposto a "breath-test" (Carroccio A. 1998).

## Allergia alle proteine del latte vaccino

Pertanto si può ipotizzare che altre caratteristiche del latte vaccino, ed in particolare il suo contenuto proteico, possano essere responsabili dei sintomi accusati dai pazienti che si auto-definiscono intolleranti al latte.

A tal proposito, un'ipotesi da valutare è quella della allergia alle proteine del latte vaccino (APLV). E' bene ricordare che l'allergia alle proteine del latte vaccino è una condizione estremamente frequente in età pediatrica, interessando fino al 5-10% dei bambini (Host A. 1994), e che le manifestazioni cli-

niche dei pazienti che soffrono di allergia alle proteine del latte vaccino sono quasi identiche a quelle dei pazienti con intolleranza al lattosio per carenza enzimatica.

Si ritiene che con il crescere dell'età la maggior parte dei bambini allergici acquisisca la tolleranza immunologica verso alimenti allergizzanti, tuttavia molti studi hanno dimostrato che questo spesso non è vero; infatti, i sintomi di ipersensibilità possono persistere anche nella seconda infanzia ed in età adulta (Carroccio A. 2000; Iacono G. 1998).

Nessuno studio, tuttavia, ha valutato l'eventuale presenza di allergia alle proteine del latte vaccino nei soggetti che riferiscono una intolleranza al latte e che risultano però assorbire normalmente il lattosio.

#### **Ridotto consumo di latte ed osteoporosi**

Il latte ed i suoi derivati giocano un ruolo fondamentale nell'alimentazione umana, in particolare per la prevenzione/correzione dell'osteoporosi. Infatti, la frequenza di fratture vertebrali spontanee, osteoporotiche, nella popolazione generale è risultata molto elevata, raggiungendo la percentuale del 12% in un'indagine radiologica condotta su soggetti ultracinquantenni di sesso femminile (O'Neill T.W. 1996).

E' noto che uno dei principali fattori che favoriscono l'osteoporosi è una dieta non sufficientemente ricca di prodotti contenenti calcio, e dunque povera soprattutto in latte e formaggi. La correzione delle abitudini dietetiche, favorendo un maggior consumo di latte e derivati, è dunque uno degli obiettivi sanitari di maggiore importanza nel campo dell'alimentazione. Prova del rapporto fra auto-riferita intolleranza al latte e ridotto introito alimentare di calcio, si è avuta con un'indagine sulle abitudini alimentari siciliane che dimostrava che l'introito giornaliero di calcio nei pazienti che si consideravano intolleranti al latte era di soli 320 mg/die, la metà di quanto consumato dal resto della popolazione (Carroccio A. 1998) e ben al di sotto degli 800-1000 mg/die raccomandati (Società Italiana di Nutrizione Umana. 1986).

#### **Dieta ricca di acidi grassi saturi ed aterosclerosi.**

Gli eventi cardiovascolari rappresentano la prima causa di morte del mondo occidentale. La degenerazione aterosclerotica dei vasi rappresenta il corrispettivo fisiopatologico principale di tali eventi e vede nella dieta ipercalorica e ricca in grassi saturi la causa più importante. Alimenti ricchi di grassi non saturi

(3) ad effetto protettivo, ma anche a basso contenuto calorico, come la carne di pesce, rappresentano i capisaldi del controllo dietetico della progressione della malattia aterosclerotica.

#### **Il latte di asina**

Il latte di asina è un alimento le cui qualità nutrizionali e terapeutiche sono inversamente proporzionali alla diffusione ed all'uso che se ne fa. Varie le cause, prima fra tutte la difficoltà di reperimento del prodotto. I principali studi clinici sull'utilità del latte di asina sono stati eseguiti dal nostro gruppo, in pazienti con allergia alle proteine del latte vaccino (Carroccio A. 2000, Iacono G. 1992).

In pazienti di età pediatrica con severi sintomi da intolleranza alle proteine del latte vaccino, il latte di asina si è dimostrato tollerato, non determinando alcun sintomo e consentendo un corretto accrescimento dei piccoli pazienti (Iacono G. 1992). Analogo risultato si è ottenuto in pazienti con polintolleranza alimentare, ossia soggetti che oltre a non tollerare le proteine del latte vaccino, non tolleravano molti altri alimenti, incluso latte speciali a base di proteine idrolizzate (e dunque meno "immunogene") (Carroccio A. 2000). In quest'ultimo gruppo di soggetti, particolarmente difficili da trattare, si è osservato che il 100% non tollerava il latte di mucca, il 90% non tollerava il latte di capra, il 60% non tollerava il latte di pecora e solo il 15% era intollerante al latte di asina. L'uso del latte di asina è dunque un importante presidio terapeutico nei bimbi con APLV e può, conseguentemente, essere proposto anche agli adulti i cui sintomi potrebbero essere dovuti alla stessa patologia.

Ancora, diversi studi hanno dimostrato come il latte di asina sia alimento a basso contenuto calorico, caratterizzato da un basso contenuto di acidi grassi saturi unitamente ad un elevato tenore di poli-insaturi (della serie 3, costituenti caratteristici degli olii di pesce), che lo rendono di grande utilità nella prevenzione delle malattie cardiovascolari, autoimmuni e infiammatorie (Salimei E, Chiofalo B, Belli Blanes R. 2001). E' pertanto ipotizzabile ed auspicabile un suo uso nella nutrizione umana dell'adulto ipercolesterolemico.

#### **Schematica descrizione del progetto di ricerca**

Alla luce di tali premesse, sono investigati i seguenti punti:

- eventuale presenza di deficit di lattasi (intolleranza al lattosio) in soggetti adulti che accusano

- sintomi all'assunzione di latte vaccino.
- Nei soggetti sintomatici ma con normale capacità digestiva (breath test dopo carico di lattosio negativo), eventuale presenza di APLV dell'adulto (applicando i criteri usati per la diagnosi in età pediatrica: dieta di eliminazione e "challenge" in doppio cieco.
  - Stima densitometrica del contenuto minerale osseo dei pazienti con auto-riferita intolleranza al latte vaccino e confronto con quella di pazienti che non lamentano sintomi dopo assunzione di latte vaccino.
  - Valutazione della tollerabilità e dell'efficacia di un prolungato uso alimentare del latte di asina sui parametri densitometrici ossei in pazienti con auto-riferita intolleranza al latte vaccino.

Allo scopo, vengono reclutati per lo studio, tutti i pazienti consecutivamente osservati, per un periodo di 12 mesi, per sintomi gastroenterologici che essi stessi riferiscono correlati all'assunzione del latte vaccino, afferenti all'ambulatorio di gastroenterologia della Divisione di Medicina Interna del Policlinico Universitario di Palermo diretto dal Prof. A. Notarbartolo.

Tutti i soggetti al momento dell'ingresso in studio saranno sottoposti a "H<sub>2</sub>-breath test" dopo carico di lattosio per accertare la presenza di una condizione di intolleranza al lattosio secondo modalità precedentemente descritte (Carroccio A. 1998). Incrementi della concentrazione di H<sub>2</sub> maggiori di 20 ppm rispetto al valore basale associati a comparsa di disturbi nelle 12 ore successive al test, saranno considerati diagnostici per "deficit di lattasi ed intolleranza al lattosio".

I soggetti intolleranti al lattosio non saranno arruolati, ma verrà loro consigliato di utilizzare un latte con lattosio pre-digerito.

I pazienti che mostrano un "breath test" negativo per intolleranza al lattosio sono posti a dieta priva di latte vaccino e derivati. In caso di scomparsa dei sintomi, questi soggetti vanno incontro ad un "challenge in doppio cieco" con le seguenti modalità: il "challenge" avverrà dopo almeno 15 giorni di dieta di eliminazione e di completo benessere, e si svolgerà con le modalità del doppio cieco, affinché pazienti e sperimentatori sconosciano la natura del tipo di latte somministrato. In pratica la Farmacia Centrale del Policlinico di Palermo prepara delle bottiglie codificate con le lettere "A" o "B" contenenti latte vaccino o latte di asina. Le bottiglie sono

consegnate ai pazienti che consumeranno il loro contenuto con le modalità e le precauzioni precedentemente descritte in nostri studi (Iacono G. 1998). Dopo sette giorni si valuta la presenza o meno di sintomi e si svela il "codice" che consente risalire al tipo di latte somministrato. Il "challenge" viene sospeso immediatamente nel caso di comparsa di sintomi; in questo caso il "codice" relativo all'identificazione del latte somministrato viene svelato anticipatamente.

I pazienti positivi al "challenge" (ripresentazione dei disturbi gastroenterologici subito dopo l'assunzione di latte vaccino), sono ritenuti affetti da APLV e vengono posti definitivamente a dieta priva di latte vaccino e derivati. A questo punto, i pazienti con APLV sono randomizzati a ricevere o non ricevere una integrazione dietetica con latte di asina in quantità di almeno 500 ml/die. La tollerabilità del latte di asina (assenza di disturbi gastro-intestinali dopo suo consumo) viene valutata con periodici controlli ambulatoriali.

Per la valutazione del contenuto minerale osseo, tutti i pazienti con diagnosi definitiva di APLV, sono sottoposti a densitometria ossea (MOC). L'esame è eseguito a livello del radio e del rachide lombare mediante densitometro Lunar DPX-Plus. I valori sono espressi come percentuale e come T-score, rispetto ad i valori di una popolazione di riferimento di giovani adulti e rispetto ai soggetti dello stesso sesso e di pari età.

L'esame viene ripetuto a distanza di 12 e 24 mesi, sia nei soggetti trattati con dieta di eliminazione con aggiunta di latte di asina (gruppo in studio), sia nei soggetti trattati con la sola dieta di eliminazione (gruppo di controllo) per valutare l'effetto dell'integrazione con latte di asina sul contenuto minerale osseo. Qualora l'esame densitometrico basale (I esame) mostri un quadro di osteopenia/osteoporosi viene comunque prescritto un trattamento standard a base di vitamina D e calcio e/o difosfonato.

#### Bibliografia

- Simoons F.J.: Am. J. Dig. Dis. 1978; 23: 963.
- Suarez F.L. et al: N. Engl. J. Med. 1995; 333: 1.
- Carroccio A. et al: J. Am. Coll. Nutr. 1998; 17(6): 631.
- Host A. : Pediatr Allergy Immunol 1994; 5 (suppl 5): 1-36.
- Carroccio A. et al.: Allergy 2000; 55: 574-9.
- Iacono G. et al: Clin. Exp. All. 1998; 28 (7): 817.

- O'Neill T.W. et al.: J. Bone Mineral. Res. 1996; 11: 1010.
- Società Italiana di Nutrizione Umana: Livelli di assunzione giornaliera raccomandata di energia e nutrienti per la popolazione italiana (LARN). Revisione 1986-87. INM Roma.
- Carroccio A. et al.: Clin. Exp. All. 2000; 30: 1597
- Iacono G. et al.: J. Ped. Gastroenterol. Nutr. 1992; 14: 177
- Salimei E. Convegno "L'asino: attualità e prospettive dell'impiego in campo medico, zootecnico ed alimentare" Mondello (Pa), 25 maggio 2001
- Belli Blanes R. "L'asino: attualità e prospettive dell'impiego in campo medico, zootecnico ed alimentare" Mondello (Pa), 25 maggio 2001
- Chiofalo B. Convegno "L'asino: attualità e prospettive dell'impiego in campo medico, zootecnico ed alimentare" Mondello (Pa), 25 maggio 2001
- Iacono G. et al.: New Engl. J. Med. 1998; 338: 1100

# Tecniche per il trattamento del latte d'asina. Risultati di prove preliminari.

DI RENZO G.C., ALTIERI G., GENOVESE F.

*Dipartimento Tecnico Economico*

*Università degli Studi della Basilicata*

## Introduzione

Il latte di asina è un prodotto antichissimo che, sebbene utilizzato per le sue proprietà già ai tempi dell'antica Roma [1], è stato dimenticato negli anni; recentemente tuttavia si assiste ad un crescente interesse per il latte appartenente a specie minori (asina, cavalla) [2,3], in parte per trovare un'alternativa a coloro che soffrono di intolleranza al latte vaccino, in parte per salvaguardare e recuperare alcune specie altrimenti destinate all'estinzione; infatti in Italia negli ultimi anni si è assistito all'estinzione di alcune razze asinine come il Cariovilli dell'Abruzzo, il Castelmorone di Caserta e il Grigio Viterbese [4].

Il latte d'asina, per la sua composizione e per le sue caratteristiche organolettiche [5], può trovare vantaggiose applicazioni nell'alimentazione dell'uomo (cfr. Tabella 1), soprattutto se si considerano le sue interessanti proprietà dietetiche e probiotiche [6] e l'interessante composizione dei suoi acidi grassi [7,8,9,10] e della frazione proteica [11]. In particolare, la diluizione dei contenuti rispetto al latte vaccino e la somiglianza con quello umano, ne potrebbero prospettare l'uso in puericoltura nei casi in cui il latte materno non sia disponibile e, soprattutto, qualora il latte bovino e i suoi derivati siano controindicati.

Tabella 1

**Caratteristiche chimiche e valore energetico riscontrato in latte di donna, vaccino e di asina [ 12, 13 modificata]**

<i>Parametri</i>	<i>Latte di donna</i>	<i>Latte vaccino</i>	<i>Latte di asina</i>
Residuo secco %	11,7	12,5	8,9
Proteine %	1,5	3,4	1,6
Caseine (% sul totale proteico)	28	78	48
Lipidi %	3,5	3,5	0,28
Lattosio %	6,5	4,8	6,7
Ceneri %	0,2	0,8	0,32
Valore energetico (kcal/100g)	64	63	44

L'allergia alle proteine del latte vaccino è una patologia abbastanza frequente in età pediatrica; secondo alcuni studi circa il 2-2,5% dei bambini di età inferiore ad 1 anno presenta questa patologia [14]. Il trattamento d'elezione in bambini con allergie alimentari nei primi mesi di vita, può essere costituito dal latte d'asina che sembra l'alimento di origine animale con le caratteristiche organolettiche più vicine al latte materno.

Infatti, a seguito della somministrazione di latte d'asina a neonati affetti da allergie alimentari multiple, risulta da alcuni studi [15] che le caratteristiche della frazione proteica del latte influiscono positivamente sui soggetti trattati. Nel latte d'asina si segnala un tenore delle componenti dotate di elevato potere allergenico,  $\alpha$  lattoalbumina e  $\beta$  lattoglobulina, pari rispettivamente al 30% ed al 23%, riferiti alla frazione sieroproteica del latte. Si nota a questo riguardo che il contenuto in lattoglobulina, risulta decisamente inferiore a quanto riscontrato nel latte bovino ed equino [16,17].

Nonostante le numerose ricerche condotte in campo medico/biochimico confermino le vantaggiose proprietà del latte di asina, la sua disponibilità è variabile nel corso dell'anno a causa della discontinuità produttiva da parte delle asine e le quantità sono minime rispetto a quelle di latte vaccino; questa situazione, confrontata con l'aspirazione dimostrata da alcune aziende agricole di vendere in loco direttamente al consumatore finale il latte prodotto, renderebbe vantaggiosa la disponibilità di un impianto di piccola capacità produttiva per il trattamento termico del latte; è evidente inoltre, che quasi nulle appaiono le ricerche condotte in campo tecnologico, a differenza di quanto fatto per altri prodotti minori [18,19], allo scopo di valutare l'impatto dei vari processi di trasformazione su un prodotto sensibilmente diverso dal più comune latte vaccino [20].

Il latte di tutte le specie, per la ricchezza di elementi nutritivi e per l'elevata percentuale di acqua, costituisce un ottimo substrato per lo sviluppo di numerosi microrganismi, i trattamenti termici ai quali il prodotto è sottoposto sono diversi e possono essere realizzati in modo da garantirne una stabilità limitata nel tempo o piuttosto lunga, purché venga garantito l'isolamento dalle contaminazioni dell'ambiente esterno.

Tra le tecniche che consentono di prolungare la shelf-life del prodotto, riducendone in maniera notevole il contenuto di acqua, c'è l'essiccamento o disidratazione. Largamente diffuso nell'industria chimica, farmaceutica e nel settore agro-alimentare (in particolar modo nell'industria casearia), è la tecnologia spray-drying, per mezzo della quale un prodotto allo stato liquido viene essiccato e ridotto in polvere [21].

In questo lavoro di ricerca sono state condotte delle prove sperimentali preliminari nelle quali latte di asina, prelevato presso allevamenti pugliesi e lucani, è stato trattato in due diverse modalità:

- pastorizzazione, da abbinare in una fase successiva di sperimentazione a prove di imbottigliamento;
- concentrazione termica e produzione di polveri mediante essiccamento spray.

Per la fase di pastorizzazione l'attività di ricerca è stata incentrata sulla progettazione di un impianto di mini pastorizzazione a basso costo, tale da essere impiegato direttamente all'interno dei piccoli allevamenti di asina per poter effettuare il trattamento termico necessario a realizzare un prodotto igienicamente sicuro, con bassi costi fissi e di gestione dell'impianto.

È stata altresì verificata la possibilità di procedere alla realizzazione di un prodotto stabile a lunga conservazione in polvere, per mezzo di tecnologia di essiccamento spray, preceduto da un pretrattamento di concentrazione termica. Le prove preliminari hanno avuto come obiettivo la verifica della fattibilità degli impianti/processi ipotizzati, e l'incidenza di ciascuno di questi in termini di salvaguardia dei componenti più labili del prodotto, al fine di giungere ad un otti-

male compromesso tra costi di gestione dell'impianto e qualità del prodotto.

### Materiali e metodi

*Analisi del danno termico nel latte* - Sulle latte ottenuto dai processi di pastorizzazione, concentrazione e spray-drying è stata effettuata un'analisi del danno termico subito. Il metodo adottato è stato quello di rilevare la quantità di sieroproteine solubili non denaturate e di rapportarle al tenore proteico totale. Per la determinazione del tenore in sieroproteine solubili non denaturate è stato effettuato il saggio del biuretto, mentre per la determinazione dell'azoto totale è stato utilizzato il metodo di Koroleff [22], più rapido e meno oneroso del metodo classico di Kjeldahl.

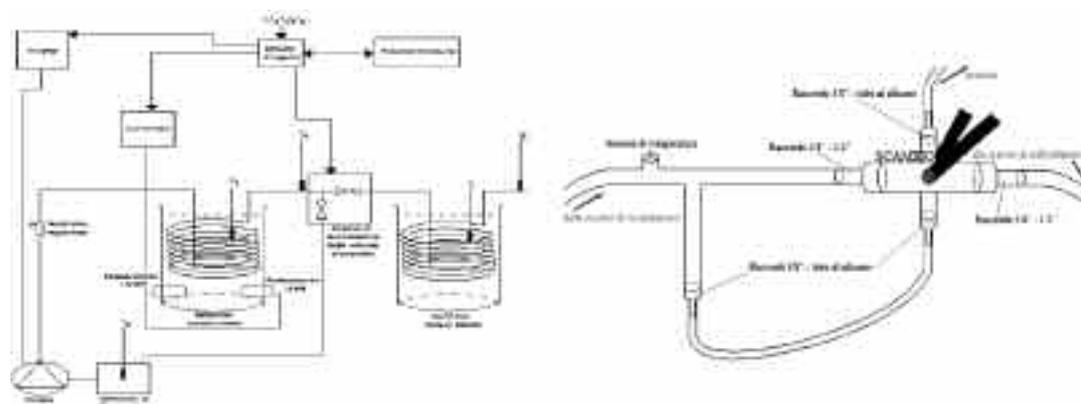
Nei campioni sottoposti ad essiccamento spray a tre diverse temperature, sono stati determinati alcuni indici di qualità (determinazione azoto non solubile, indice di danno termico, indice di insolubilità, acidità titolabile) secondo quanto stabilito dall'ADMI (American Dry Milk Institute), inoltre si è cercata una correlazione fra questi parametri e la variazione di concentrazione di vitamina C (eventualmente integrata e portata a circa 60 mg/l) prima e dopo la polverizzazione, determinata mediante metodica ufficiale (Official Methods of Analysis) AOAC 68, 514 (1985).

*Impianto di mini-pastorizzazione* - L'impianto di mini-pastorizzazione progettato e realizzato può essere suddiviso in quattro sezioni (Figura 1):

- Sezione di riscaldamento
- Sezione di raffreddamento
- Sistema di trasporto e movimentazione del latte
- Circuito elettronico di controllo

Figura 1

### Rappresentazione schematica del mini pastorizzatore e particolare della valvola di scambio



Il riscaldamento del latte avviene in una serpentina sagomata a spirale disposta in un serbatoio di acciaio inox da 30 litri riempito con acqua. Il latte viene portato alla temperatura di pastorizzazione attraverso il riscaldamento dell'acqua contenuta nel serbatoio, ad opera di 2 resistenze termostate da 1,5 kW ciascuna. Per mantenere costante il livello termico e per evitare nocive dispersioni di calore tutte le superfici esterne sono ricoperte con neoprene.

Il latte da trattare fluisce nella serpentina dal basso verso l'alto. Il raffreddamento del latte avviene in una serpentina immersa in un altro serbatoio d'acciaio inox da 30 litri pieno di acqua gelida. Nella serpentina il latte presenta una direzione del moto che è dall'alto verso il basso. Il latte crudo contenuto nel serbatoio di alimentazione viene prelevato da una pompa, un inverter alimenta la pompa a diverse frequenze così da modificarne la portata. Il latte giunge nella serpentina della sezione di riscaldamento e quindi alle valvole di scambio. Alcuni centimetri prima di tali valvole è posizionata una sonda che misura la temperatura del latte (cfr. Figura 1).

L'apertura delle valvole avviene attraverso un motore elettrico a corrente continua 12 V, sull'albero motore del quale è presente un braccio che porta le manopole dei rubinetti. Considerando che a fine corsa della manopola il motore potrebbe essere soggetto a uno sforzo eccessivo e inutile, sono stati installati due interruttori di fine corsa, che vengono azionati dallo stesso braccio.

Se la sonda del sistema di controllo della temperatura rileva un livello termico maggiore di  $71,7^{\circ}\text{C}$  la valvola A si apre e la B si chiude cosicché il latte va

nella serpentina della sezione di raffreddamento e quindi in uscita dal pastorizzatore. Se la temperatura è minore di  $71,7^{\circ}\text{C}$  la valvola B si apre, la A si chiude e il latte ritorna nel serbatoio di alimentazione.

Le serpentine e il sistema di scambio sono costituiti da tubi in acciaio inox, mentre tutti gli altri condotti sono realizzati con tubi al silicone.

L'impianto è collegato ad un circuito elettronico di controllo, costituito da una scheda di acquisizione e controllo governata tramite un software programmato in linguaggio G di LabVIEW™.

I dati in uscita comandano un gruppo di relé che determinano l'apertura/chiusura della valvola di scambio e un ulteriore relé collegato ad un contattore responsabile dell'accensione/spegnimento delle resistenze.

*Prove di concentrazione (sottovuoto)* - Ciascun campione di latte prelevato dalle aziende fornitrici e refrigerato a  $4^{\circ}\text{C}$  fino al trasporto nei locali del laboratorio, è stato sottoposto ad un processo di concentrazione sottovuoto, a basse temperature.

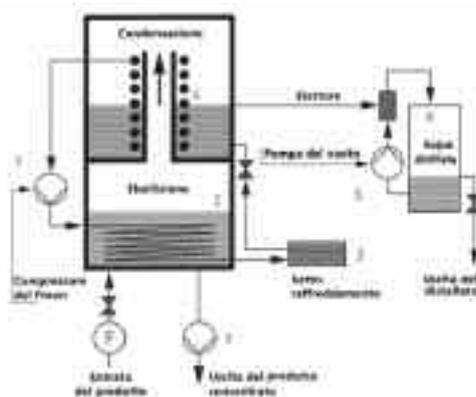
Durante l'operazione è stato determinato il tasso di evaporazione monitorando i volumi di evaporato raccolti ad intervalli regolari di tempo; sul concentrato ottenuto dal processo di concentrazione sono state effettuate determinazioni chimico-fisiche.

Il concentratore sottovuoto utilizzato sfrutta il principio dell'ebollizione sottovuoto ed è alimentato con corrente elettrica. In Figura 2 si può osservare lo schema di funzionamento del concentratore.

*Spray dryer* - Il processo di essiccamento spray è stato eseguito su ogni campione di latte, precedentemente concentrato al 28%, a tre diverse temperature ( $120-150-185^{\circ}\text{C}$ ).

Figura 2

### Schema di funzionamento dell'evaporatore sottovuoto e foto del prototipo



Le polveri ottenute attraverso l'essiccamento spray sono state sottoposte ad alcuni saggi chimico-fisici al fine di valutare gli effetti del trattamento termico subito.

L'impianto utilizzato, dotato di notevole flessibilità, è caratterizzato da due ventilatori separati per l'ingresso e per l'uscita dell'aria controllati individualmente, con la possibilità di modificare la posizione degli ugelli di nebulizzazione e la possibilità di selezionare il flusso dell'aria in equi o contro corrente.

Il latte da polverizzare viene atomizzato attraverso un ugello a doppio fluido ed entra, sottoforma di fini goccioline, nella camera di disidratazione. L'aria riscaldata (hot air inlet) impiegata per la disidratazione è orientata nell'interno della massa di goc-

cioline; l'acqua della superficie vaporizza e avviene un'evaporazione "flash". Il prodotto polverizzato viene raccolto per la massima parte sul fondo della macchina, una piccola frazione, corrispondente alle polveri più fini, viene raccolta in un filtro a ciclone (cfr. figura 3 e tabella 2).

### Risultati e discussione

In tabella 3 sono riportati i risultati relativi ai parametri chimico-fisici riscontrati nei campioni di latte di asina; essi appaiono in linea con i valori generalmente riportati in letteratura.

### Impianto di mini-pastorizzazione

Il tenore proteico del latte in uscita dalla sezione di riscaldamento varia dall'1,1 all'1,55 %, mentre la percentuale di sieroproteine solubili non denaturate dallo 0,37 allo 0,46 %.

Quindi la percentuale di queste ultime sulle proteine totali, cioè l'indice di riferimento in legislazione per il latte vaccino (artt. 3 - 4 della legge n. 169 del 3/5/89), varia dal 23,9 al 41,8 %, che è un buon risultato dato che il valore minimo previsto per legge, sempre nel caso del latte vaccino, è di un minimo del 14 % per il latte fresco pastorizzato.

Tabella 2

#### Intervalli di regolazione ammessi per i parametri di funzionamento dello spray-dryer utilizzato nelle prove sperimentali

<i>Parametri</i>	<i>Valori Ammessi</i>
Portata di alimentazione (dm <sup>3</sup> /h)	0,2-2,0
Acqua evaporata (dm <sup>3</sup> /h)	0,2-1,0
Portata di aria regolabile (m <sup>3</sup> /h)	>60
Residuo secco nell'alimentazione (%)	10-60
Temperatura dell'aria per l'essiccamento(°)	50-250
Ugelli di nebulizzazione (n)	2
Tempo medio di residenza nella camera di disidratazione (s)	1
Diametro delle particelle solide ammesso (mm)	20-120

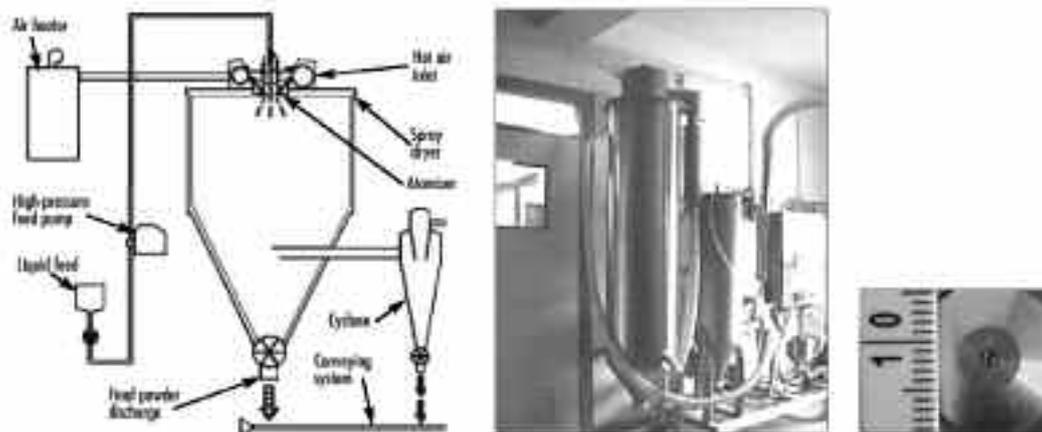
Tabella 3

#### Composizione media riscontrata nei campioni di latte di asina (g/100ml)

Grassi	0,5
Proteine	1,7
Lattosio	6,6
Residuo secco (%)	10

Figura 3

#### Schema di funzionamento dello spray dryer, prototipo ed ugello di atomizzazione.



### Prove di concentrazione (sottovuoto)

In Figura 4 è riportata la relazione grafica tra la variazione del residuo secco del concentrato di latte di asina ed il tasso di evaporazione medio durante le prove di concentrazione sotto vuoto.

Con il processo di concentrazione si è verificata una variazione di alcuni parametri chimico-fisici rispetto al latte tal quale (cfr. Tabella 4).

### Spray dryer

I dati sperimentali ottenuti fanno riferimento al funzionamento dello spray dryer alimentato con una portata di concentrato pari a 0,5 l/h, con un residuo secco del concentrato del 28% ed un'umidità relativa ambientale di circa il 45%. I dati misurati sono esposti in Tabella 5.

Relativamente alla valutazione del danno termico dovuto al processo essiccativo sono state confrontate le concentrazioni di vitamina C prima e dopo il processo; nel latte in entrata allo spray dryer è stata aggiunta vitamina C, per standardizzare le condizioni di partenza, fino a concentrazioni di circa 60 mg/l. Ipotizzando una cinetica di ordine I per la distruzione della vitamina C, sono stati ricavati i valori di D (tempo di riduzione decimale) alle diverse temperature sperimentate.

Figura 4  
Relazione tra tasso di evaporazione e residuo secco del concentrato nelle prove di evaporazione sotto vuoto di latte d'asina.

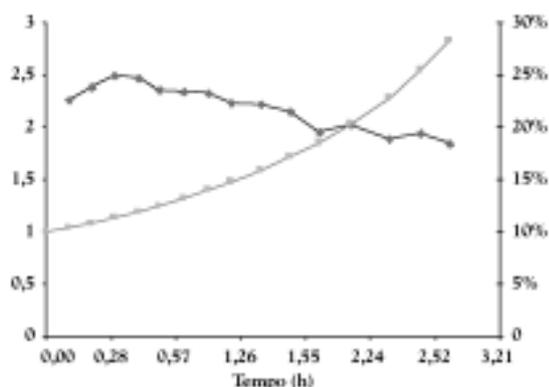


Tabella 4  
Variazione di alcuni parametri del latte di asina in seguito al processo di concentrazione

	pH	Densità (g/l)	Conducibilità (mS/cm)	Viscosità (cP)
Latte di asina	7,2	1033	2,0	11,5
Latte di asina concentrato	7,1	1050	2,7	13,2

Per la definizione del danno termico è anche stato valutato il tenore in siero proteine solubili rispetto al tenore proteico complessivo dei campioni di latte di asina sottoposti al trattamento termico. Dai dati ricavati si evince, a conferma di quanto ottenuto con la verifica delle perdite in vitamina C, che a temperature maggiori aumenta l'entità del danno termico subito dal prodotto ed inoltre che la distruzione di vitamina C è proporzionale sia all'indice di danno termico che all'indice di insolubilità (cfr. Figura 5).

### Conclusioni

L'allevamento dell'asino ai fini della produzione di latte sta crescendo in Italia, particolarmente nelle zone nelle quali è storicamente maggiore la tradizione dell'allevamento asinino; è quindi necessario che venga ottimizzato il processo produttivo, trovando strategie tecnologiche ed economiche applicabili nell'ambito dell'allevamento e nel processo di trasformazione del latte crudo in latte alimentare.

**Impianto di mini-pastorizzazione.** Le considerazioni sull'elevata importanza commerciale del latte d'asina, quale prodotto cardine di quella categoria di latte definita "alternativa" destinata ai bambini allergici al latte vaccino, hanno portato alla realizzazione di un impianto di pastorizzazione rispondente alle richieste produzioni giornaliere di tale alimento.

La caratteristica principale dell'impianto è, da un lato l'economicità e la facile reperibilità dei componenti, dall'altro la semplicità di assemblaggio e manutenzione.

Tabella 5  
Valori medi sperimentali ottenuti per il processo di produzione di polveri di latte di asina a diverse temperature operative.

$T_{ai}$ (°C) aria ingresso	RS% prodotto uscita	$T_{ao}$ (°C) aria uscita	UR% aria uscita
185	98.2	79.2	11.4
150	97.1	64.1	19.2
120	96.6	49.4	30.1

Tabella 6  
Tempi di riduzione decimale per la distruzione della vitamina C nel processo di essiccamento del latte di asina, a diverse temperature

Temperatura di essiccamento (°C)	D (s <sup>-1</sup> )
185	0,91
150	0,96
120	1,02

L'automazione dell'impianto è la parte del lavoro più innovativa; con i programmi creati in ambiente LabVIEW™ è possibile monitorare e gestire molte variabili che controllano l'operato della macchina.

L'analisi dei campioni in uscita dalla sezione di riscaldamento del mini-pastorizzatore ha dato ottimi risultati in relazione alla valutazione del danno termico, considerata peraltro la bassa quantità di proteine nel latte d'asina.

**Impianto di concentrazione (sottovuoto).** Attraverso il processo di evaporazione sottovuoto è stato possibile raggiungere un residuo secco finale del 28% in un tempo inferiore alle 3 ore, con una bassa variabilità del tasso di evaporazione nel corso della prova; inoltre il prodotto concentrato ottenuto presenta buone proprietà dal punto di vista reologico e chimico-fisico. Da queste considerazioni si evince che l'operazione di concentrazione del latte di asina potrebbe essere agevolmente inserita in un ideale processo di trasformazione, sia quale pretrattamento per la successiva riduzione in polvere, sia per la produzione di un intermedio da utilizzare da solo o in associazione con latte di altre specie, per la preparazione di derivati.

**Spray dryer.** Le prove sperimentali effettuate sull'impianto di essiccamento spray, utilizzando solo l'aria calda di processo, hanno permesso di rilevare l'entità del trattamento su una matrice a diversa composizione chimica rispetto al classico latte vaccino; è stato ricavato un indicatore di qualità delle polveri ottenute, relativamente al danno termico subito ed in relazione alla temperatura di processo adottata.

Per quanto riguarda la qualità della polvere di latte prodotta, nei campioni trattati è stato osservato

un aumento dell'indice di danno termico all'aumentare della temperatura. Per valutare l'effetto del trattamento termico applicato, è stato inoltre, effettuato uno studio della cinetica di distruzione della vitamina C, scelta come indicatore del danno termico subito dal latte durante il processo di essiccamento spray. A 185 °C il trattamento termico sul latte d'asina, che è particolarmente soggetto al danno termico considerando la bassa quantità di proteine, è risultato "debole" (IDT<80) e le polveri ottenute di qualità "premium o extra" (acido lattico 0,07% < 0,15% ADMI).

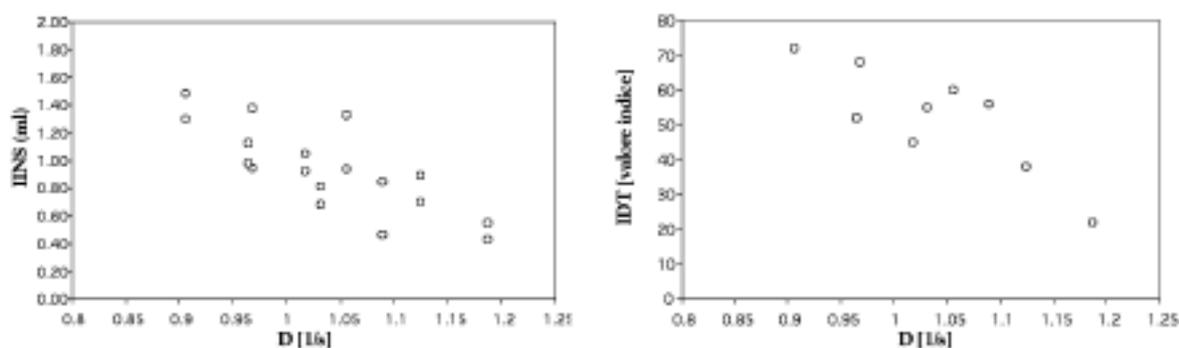
In conclusione appare evidente che sono necessari ulteriori approfondimenti scientifici, sia dal punto di vista delle implicazioni termodinamiche in gioco nei processi termici che delle implicazioni qualitative del latte e delle polveri in uscita nei vari stadi di processo; tuttavia dai primi risultati appare possibile la realizzazione di un piccolo impianto aziendale per la pastorizzazione, la concentrazione e la polverizzazione di latte prodotto da asine, con costi contenuti per l'acquisto ed il funzionamento degli impianti e con buoni risultati qualitativi dei prodotti ottenuti.

#### Riferimenti bibliografici

- Baroncini R., L'asino, il mulo e il bardotto, Calderini Edagricole, Bologna, 2001.
- Chiofalo B., Salimei E., 2001, "Ass's milk: exploitation of an alimentary resource", Rivista Folium, Supplemento n. 3, Vol. I, 235-241.
- Csapò J., Stefler J., Martin T.G., Makray S., Csapò-Kiss Zs., 1995, "Composition of mare's colostrums and milk. Fat content, fatty acid composition and vitamin content", International Dairy Journal, 5, 4, 393-402.
- Gandini G., Rognoni G., Atlante etnografico delle popolazioni equine e asinine per la salvaguardia delle risorse genetiche, Città Studi Edizioni, Milano, 1997.

Figura 5

**Indice di insolubilità (IINS) ed indice di danno termico (IDT) per il latte di asina polverizzato a tre diverse temperature, in relazione al tempo di riduzione decimale (D) della vitamina C.**



- Chiofalo B., Azzara V., Liotta L., Chiofalo L., 2004, "I parametri chimico-fisici del latte di asina Ragusana nel corso della lattazione". Atti del 6° Convegno: Nuove acquisizioni in materia di ippologia, 78-84.
- Coppola R., Salimei E., Sorrentino E., Nanni M., Succi M., Belli Blanes R., Grazia L., 2001, "Latte d'asina: un substrato ideale per la preparazione di bevande probiotiche", Atti del 36° Simposio Internazionale Zootecnico, Ancona, 27 aprile, 57-61.
- Chiofalo B., Salimei E., Chiofalo L., 2003, "Acidi grassi del latte d'asina: Proprietà bio-nutrizionali ed extranutrizionali", *Large Animals Review*, 5, 1-6.
- Doreau M., Gaillard J.L., Chobert J.M., Leonil J., Egitto A.S., Haertle T., 2002, "Composition of mare and donkey milk fatty acids and protein and consequences on milk utilisation". Atti del 4° Convegno: Nuove acquisizioni in materia di Ippologia, Campobasso, 11-13 luglio, 51-71.
- Chiofalo B., 2001, "Gli acidi grassi nel latte di asina: molecole bioattive di grande interesse", Convegno "L'asino: attualità e prospettive dell'impiego in campo medico, zootecnico ed alimentare - Palermo, Italy, 25 Maggio, 69-79.
- Jahreis G., Mockel P., Schone F., Moller U., Steinhart H., 1999, "The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11 C 18:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, sow, mare, woman", *Nutrition Research*, 19, 10, 1541-1549.
- Fantuz F., Vincezetti S., Polidori P., Vita A., Polidori F., Salimei E., 2001, "Study on the protein fractions of donkey milk", XIV Convegno Nazionale A.S.P.A., Giugno 2001, 635-637.
- Belli Blanes R., 2001, "Il latte d'asina a confronto con il latte materno, il caprino, il bovino e le formule commerciali", Atti del Convegno - L'asino: attualità e prospettive dell'impiego in campo medico, zootecnico ed alimentare, Mondello, 25 maggio, 59-68.
- Fidanza F., Liguori G. - *Nutrizione Umana* - IDELSON, pag. 240, 1995.
- Calvani M., "La allergia alle proteine del latte vaccino", articolo scientifico tratto da Internet.
- Iacono G., "Utilizzo del latte d'asina nel trattamento delle poli-allergie alimentari: esperienze personali", articolo scientifico tratto da Internet.
- Salimei E., Belli Blanes R., Marano A., Varisco G., 2002, "Latte d'asina: un'alternativa contro le allergie alimentari nell'infanzia", *Il Chitone*, 26, 19-22.
- Herrouin M., Mollè D., Fauquant J., Balestra F., Maubois J.L., Léonil J., 2000, "New genetic variants identified in Donkey's milk whey proteins", *Journal of Protein Chemistry*, 19, 2, 105-116.
- Di Cagno R., Tamborrino A., Gallo G., Leone C., De Angelis M., Faccia M., Amirante P., Gobetti M., 2004, "Uses of mare's milk in manufacture of fermented milks", *Int. Dairy Journal*, 14, 767-775.
- Stoyanova, L. G., Abramova, L. A., Ladoto, K. S., 1988, "Freeze dried mares' milk and its potential use in infant and dietetic food products", *Vopros. Pitan.* 2, 64-67.
- Balestra F.; 1995, Process for conservation of donkey milk and its application in the pharmaceutical and cosmetic industry, French Patent application, FR 2 707 877 A1.
- Daeman, A. L. H., van der Stege H. J., 1982, "The destruction of enzymes and bacteria during the spray-drying of milk and whey", *Neth milk Dairy J.* 36, 211.
- Koroleff F., 1983, "Simultaneous oxidation of nitrogen and phosphorus compounds by persulfate", 168- 169, in K. Grashoff, M. Eberhardt, and K. Kremling, eds., *Methods of seawater analysis*, 2<sup>nd</sup> ed., Verlag Chemie, Weinheimer, FRG.

# Sessione accreditata



# Quantificazione del Lisozoma nel latte di asina in fasi diverse della lattazione

PAOLO POLIDORI

*Dipartimento di Scienze Ambientali*

SILVIA VINCENZETTI

*Dipartimento di Scienze Morfologiche*

*e Biochimiche Comparate,*

*Università degli Studi di Camerino*

## Abstract

Cow's milk derivatives may causes severe Ig-E mediated allergies in infants, in these cases the therapy is based on the utilization of soy milk or of a hydrolyzated formulas milk. Donkey's milk is considered a valid alternative to powdered milks since its composition in lipids (high levels of linoleic and linolenic acid ) and proteins (low caseins content) is very close to human milk. The aim of this study was to give further inside about the "donkey's milk" product especially regarding on the protein fractions. In this work were identified  $\alpha_{S1}$ - and  $\beta$ -caseins, lysozyme,  $\alpha$ -lactoalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin. Other types of caseins in such as  $\kappa$ - and  $\gamma$ -caseins were not found probably because of their low amount. Donkey's milk lysozyme content resulted to be higher with respect to bovine milk and varied during the different stages of lactation (mean value, 1.0 mg/ml). The  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactoalbumin content in donkey milk was 3.7 and 1.8 mg/ml.

The low caseins fraction amount as well as the high lysozyme content of donkey's milk associated with its good palatability make this milk suitable for infant affected by cow's allergy feeding.

## Introduzione

Un cibo può essere definito funzionale se esercita effetti benefici su una o più funzioni fisiologiche in modo tale da essere rilevante sia per promuovere lo stato di benessere e salute che per ridurre il rischio di malattie. In base a tale definizione non si può che definire il latte d'asina un alimento funzionale. Il latte di asina, per la sua peculiare composizione quali-quantitativa e per le sue caratteristiche organolettiche, può trovare vantaggiose applicazioni nell'alimentazione dell'uomo, specie se si considerano le sue interessanti proprietà dietetiche e probiotiche. In particolare la

diluizione dei contenuti rispetto al latte vaccino e la somiglianza con quello umano, ne potrebbero prospettare l'uso in puericoltura nei casi in cui il latte materno non sia disponibile e, soprattutto, qualora il latte bovino e suoi derivati siano controindicati. I medici sanno da tanto tempo che i bambini allattati al seno contraggono meno infezioni di quelli nutriti artificialmente. Fino a tempi abbastanza recenti, la maggior parte dei medici presumeva che i bambini allattati al seno stavano meglio, semplicemente per il fatto che il latte fornito direttamente dalla mammella è assente di batteri. Il latte in polvere, invece, che deve essere mescolato con acqua e versato nel biberon può facilmente contaminarsi. Il motivo, si è scoperto, è da ricercarsi nel fatto che il latte materno aiuta attivamente e in vari modi il neonato ad evitare di contrarre malattie. Questo aiuto ha particolari benefici durante i primi mesi di vita quando cioè il neonato, spesso, non è in grado di disporre di una valida risposta immunitaria contro gli organismi estranei. Infatti, la risposta immunitaria del bambino raggiunge la sua piena potenza all'età di circa cinque anni.

*Requisiti fondamentali di un latte sostitutivo.* Il latte materno mostra di avere quindi proprietà che un latte atto a sostituirlo non riuscirà mai a ricalcare; si può, comunque, raggiungere un buon compromesso cercando di rispettare gli aspetti fondamentali richiesti da un alimento destinato ad un "pubblico" così speciale, che possiamo individuare in una valida adeguatezza nutrizionale, in una sua ipoallergenicità e ipoimmunogenicità, in una ovvia appetibilità e non ultimo in una disponibilità a basso costo del prodotto alternativo. Sulla base di questa "griglia di valutazione", si possono brevemente considerare i caratteri delle alternative al latte materno più diffuse.

*Formule alla soia.* Le formule alla soia rappresentano attualmente una valida alternativa nutrizionale in pazienti con intolleranze al latte vaccino. Alcuni studi clinici hanno infatti ampiamente documentato una crescita normale, un adeguato apporto nutrizionale di proteine, e una regolare mineralizzazione ossea (Muraro e coll., 2002). Tuttavia, l'uso di alcuni preparati desta preoccupazione: sono, infatti, presenti in queste formule alti livelli di alluminio. Sebbene non sia stato documentato nessun effetto tossico nei nati a

termine, ciò ne impedisce l'uso nei nati pre-termine e in bambini con difficoltà renali. In secondo luogo queste formule contengono da due a sei volte la concentrazione di manganese rispetto al latte vaccino; alcuni autori hanno espresso la loro perplessità sui potenziali effetti a lungo termine di tale minerale sul sistema nervoso centrale; sono inoltre presenti alcune sostanze fisiologicamente attive, i fitoestrogeni, i cui effetti a lungo termine non sono ancora chiari. Infine, sebbene le preparazioni eseguite da aziende specializzate vengono incontro alle richieste nutrizionali del bambino, in assenza di una chiara e ben definita regolamentazione, ci sono in circolazione prodotti basati sul latte di soia inutilizzabili a motivo dei loro apporti inadeguati in calorie, minerali e calcio. Esiste, poi, un ulteriore problema, in quanto tali formule non sono sicure dal punto di vista allergologico: contengono 2 tra i principali peptidi allergenici nelle frazioni 7s della conglucina e 11s della glicina, e sono rappresentate, rispettivamente, da gly m1 da 30 kDa (uno dei maggiori allergeni) e gly g2 da 22 kDa (l'allergene principale). E' presente un ulteriore peptide allergenico, considerato un allergene minore, che viene eliminato per l'80-90% dall'applicazione di calore durante la preparazione delle formule. Alcune manifestazioni cliniche associate all'allergia alla soia, nel caso di processi IgE mediati, sono rappresentate da dermatiti atopiche, sintomi gastrointestinali, respiratori e anafilassi, sebbene quest'ultima sia stata rilevata piuttosto raramente. Nel caso di manifestazioni non IgE mediate, l'effetto avverso più frequentemente rilevato è stato l'enteropatia con atrofia dei villi. L'allergia alla soia ha riportato un'incidenza variabile tra il 3 e il 40%. Tale variabilità è dovuta alla diversità dei criteri diagnostici usati.

*Latte di capra.* Il latte di capra viene comunemente considerato una buona alternativa al latte vaccino e alle formule alla soia. In effetti tale latte è caratterizzato da un contenuto di proteine, calcio e calorie simile a quello del latte vaccino con un profilo di aminoacidi essenziali paragonabile a quello umano. Bisogna evidenziare, però, che il latte di capra manca di vitamina B<sub>12</sub> e B<sub>9</sub>, per cui deve esserne arricchito. Queste formule rappresentano un buon compromesso tra costi e resa, e si dimostrano sicure ed efficaci nell'alimentazione di bambini sani e con intolleranze al latte vaccino e allergia (IgE mediata) qualora questi non sviluppino intolleranza, evento che però si verifica con una incidenza degna di nota (Iacono e coll., 1992).

### **Il latte d'asina quale alimento sostitutivo del latte materno**

L'aneddotica popolare e il perpetuarsi di alcune tradizioni suggerivano sin da tempi remoti che il latte d'asina non era solo il prodotto secondario di un animale usato peculiarmente per fini lavorativi, bensì un fluido biologico dalle mille virtù. I dati sperimentali finora raccolti indicano chiaramente che tali intuizioni trovano un ampio riscontro nelle verifiche scientifiche, nelle analisi della composizione e nell'applicazione terapeutica sperimentale. Comunque, prima di poter considerare con cognizione di causa questo latte come prodotto d'elezione nell'ambito della nutrizione infantile è opportuno verificare che vengano soddisfatti i parametri che caratterizzano un buon latte sostitutivo.

*Apporti nutrizionali.* E' già stato precedentemente sottolineato come un buon cibo alternativo da destinare all'alimentazione neonatale debba innanzitutto garantire una buona crescita e un regolare sviluppo psico-fisico. A questo scopo è opportuno che i parametri di tale alimento restino costanti, o subiscano variazioni non rilevanti nel corso della lattazione. Molti ricerche si sono orientate in tal senso, fornendo ottime indicazioni sulla composizione e variabilità delle componenti del latte d'asina. Per quanto riguarda gli aspetti qualitativi del latte d'asina, si ricorda che una considerevole variabilità interna specifica principalmente per ciò che riguarda i tenori lipidico e proteico, può dipendere da fattori genetici ed ambientali. Infatti, così come si verifica nella specie bovina, è possibile che anche tra le diverse razze asinine sussista una certa variabilità che, unitamente alle condizioni ambientali (alimentari, soprattutto) e individuali, possono avere determinato talune differenze riscontrate tra i dati sperimentali e quelli bibliografici. Sono state individuate alcune peculiarità emerse dai dati sperimentali: il valore energetico medio, espresso da Salimei e coll. (2004), è di 1732.9 kJ/Kg; la sostanza secca totale è del 8.8%; le ceneri (che possiamo anche definire come contenuto totale in minerali) corrispondono allo 0.4% circa. La quota di azoto non proteico risulta assai prossima a quella riscontrata nel latte umano. Il significato biologico di questa frazione del latte che comprende urea, acido urico, creatinina, aminoacidi, acidi nucleici e nucleotidi, non è ancora stata chiarita ma viene da alcuni considerata di notevole importanza nello sviluppo neonatale.

*Il lattosio.* L'elemento più rappresentativo del latte d'asina è il lattosio con una percentuale in contenuto del 6.8%, pari a quello umano. Il tenore in lattosio tende ad elevarsi durante il periodo di transizione (fine gestazione-parto) rispetto a quello estivo, e a ridursi in autunno. L'elevato contenuto in lattosio, pressoché sovrapponibile a quello del latte umano, oltre a renderne piacevole il sapore, ha un ruolo probiotico rappresentando il substrato ideale per un corretto sviluppo della flora lattica intestinale e, da un punto di vista tecnologico, rende il latte di asina un substrato ideale per la preparazione di bevande probiotiche.

*Proteine totali.* La concentrazione azotata media è prossima al tenore proteico del latte di donna, risultando compatibile con le esigenze dietetiche del bambino. Inoltre, questa componente è ricca in aminoacidi essenziali, che ne suggeriscono un'applicabilità come supplemento nell'alimentazione geriatrica. Soffermandoci sulla caratterizzazione di tale componente, le frazioni azotate rilevate si suddividono in proteine del siero, quali beta-lattoglobulina ed alfa-lattoalbumina; sostanze proteiche molto particolari quali lisozima e lattoferrina ad altissimo valore nutraceutico per le loro proprietà antibatteriche, come verrà più esaurientemente discusso in seguito, e caseine. È bene ricordare che il contenuto in caseina è risultato più elevato nel latte d'asina (0.62%) che nel latte di donna, ma decisamente inferiore a quello bovino e caprino, nonché al titolo caseinico del latte di equino. Inoltre il rapporto tra la percentuale di caseina e quella di proteine del siero è risultato anch'esso più elevato nel latte di asina rispetto al latte di donna, ma si avvicina a quello dichiarato per i prodotti sostitutivi del latte materno. Al contrario nel latte di ruminanti tale rapporto è quattro volte superiore al latte di asina e sette volte maggiore di quello umano.

*Minerali.* La concentrazione media dei minerali nel latte d'asina (0.39 g/100 ml), come in quello di cavalla, è risultata più elevata rispetto a quello di donna, mentre si è rivelata pressoché identica nelle formule iniziali e addirittura superiore in quelle di proseguimento. Il latte dei ruminanti presenta anche in questo caso tenori ben più elevati. Per quanto riguarda i singoli macroelementi minerali considerati, spiccano le basse concentrazioni di calcio e soprattutto di fosforo nel latte umano rispetto agli altri tipi di latte (Salimei e coll., 2004); anche in questo caso i sostituti in polvere del latte materno presentano va-

lori più elevati ed il latte d'asina si colloca in posizione intermedia tra formula iniziale e latte di proseguimento. Quest'ultimo presenta un contenuto in calcio e fosforo sovrapponibile a quello di cavalla. La concentrazione media del potassio nel latte d'asina è leggermente inferiore rispetto a quello umano mentre più elevate risultano quelle dichiarate dalle formule iniziali e di proseguimento. Per quanto concerne cloro e magnesio, le concentrazioni sono risultate nel latte d'asina mediamente simili a quello di donna, mentre il tenore in sodio si è rivelato leggermente superiore. I contenuti in calcio, cloro, potassio, sodio e magnesio, nel latte bovino e caprino risultano essere circa tre volte superiori a quelli del latte umano e nel caso del fosforo, addirittura sei volte tanto. Spicca inoltre l'elevatissimo contenuto di cloruri nel latte di capra. Tra i minerali rintracciati il calcio e il fosforo, come sopra accennato, sono presenti in quote più elevate di quanto determinato nel latte materno. Il loro rapporto, 1.48, ha valori intermedi tra quelli rilevati nel latte umano e vaccino; Si ritiene che, in stretta relazione con l'alimentazione, anche la concentrazioni di minerali subiscano un decremento in fase autunnale.

*Frazione lipidica.* Il tenore lipidico del latte asinino (di circa 10 volte inferiore di altri latti considerati ad eccezione del latte di cavalla) è davvero basso, con valori medi di circa 0.45%, e la sua composizione, del tutto degna di nota, conferisce a questo alimento molte potenziali applicabilità in ambito dietoterapico. Nel latte d'asina sono stati identificati 22 acidi grassi saturi a catena lineare da  $C_4$  a  $C_{24}$ ; 9 acidi grassi monoinsaturi da  $C_{10}$  a  $C_{24}$ ; 13 acidi grassi polinsaturi da  $C_{10}$  a  $C_{18}$  di cui cinque della serie omega 6 e 8 della serie omega 3. La frazione dei saturi è apparsa, mediamente, la più rappresentata tra le classi acide del latte d'asina con valori sovrapponibili a quelli del latte di cavalla e di donna e inferiori rispetto al latte di pecora e capra. L'acido grasso saturo presente in maggior quantità è il palmitico, mentre, tra gli acidi grassi di maggior interesse nutrizionale presenti in modeste quantità, le concentrazioni più elevate sono quelle di acido miristico e stearico. Per ciò che riguarda i monoinsaturi, il più rappresentato è l'oleico; l'acido palmitoleico, pur se presente in quantità più ridotta del precedente, mostra più alte concentrazioni rispetto al latte vaccino. Degni di nota sono i livelli di acidi grassi polinsaturi registrati nel latte d'asina che raggiungono valori notevolmente superiori rispetto ad altre specie di ani-

mali lattiferi. In particolare, nell'ambito degli acidi grassi essenziali, il contenuto in acido linolenico risulta in assoluto il più alto; il linoleico presenta valori inferiori solo al latte di donna (Chiofalo, 2003). Il rapporto in acidi grassi della serie  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 nel latte d'asina, confrontabile con quello della specie cavallina, è maggiore che nella specie umana. Il contenuto della serie  $\omega$ -6 è risultato maggiore rispetto a quello degli  $\omega$ -3. Inoltre, il rapporto tra gli acidi grassi insaturi (monoinsaturi e polinsaturi) e quelli saturi appare leggermente inferiore nel latte asinino che in quello umano e di giumenta, ma superiore nei confronti dei ruminanti. Una giustificazione a tale fenomeno può essere attribuita al fatto che nei poligastri si verificano alcuni processi di fermentazione anaerobica a livello del rumine che comportano un'idrogenazione degli acidi grassi insaturi non protetti con conseguente saturazione e formazione di acidi grassi saturi. Riassumendo, il latte d'asina appare caratterizzato da un basso contenuto di acidi grassi saturi che, unitamente ad un elevato tenore di insaturi, lo rendono di grande utilità nella prevenzione delle malattie cardiovascolari, autoimmuni ed infiammatorie. Da sottolineare l'alto tenore degli acidi grassi polinsaturi della serie  $\omega$ -3, costituenti caratteristici degli oli di pesce, che oltre ad influenzare le suddette patologie, svolgono un certo ruolo sull'esito dei trapianti, su alcune forme di neoplasie, sullo sviluppo fisico e neuro-psichico. Inoltre l'elevata percentuale di acidi grassi a catena media ha influenza sui fenomeni di vasodilatazione e agisce sinergicamente con gli acidi grassi a catena corta, contribuendo, in modo indiretto, ad aumentare le difese anti-ossidanti dell'organismo. Tuttavia i bassi livelli di acido arachidonico e di acido docosaesanoico, costituenti essenziali delle terminazioni sinaptiche e dei fosfolipidi di membrana e quindi necessari nei vari processi di mielinizzazione, rendono indispensabile un'integrazione di questi acidi. Deve anche essere integrato, a motivo della scarsità di lipidi, l'apporto calorico con appropriati grassi e oli addizionali. Un altro dato ben degno di nota riguarda gli indici aterogenico e trombogenico, significativamente più bassi di quelli trovati nel latte vaccino, sebbene più alti rispetto quelli degli oli vegetali. Questi si sono mostrati piuttosto stabili durante tutta la lattazione, segnalando chiaramente che gli indici di salubrità di questo latte sono ottimi.

*Il lisozima.* Il lisozima, peptide bioattivo che esercita una funzione battericida in quanto rompe la pa-

rete cellulare batterica, presente nel latte di asina, lo ricordiamo, in quantità superiori sia rispetto al latte vaccino che al latte umano. Si ritiene che sia proprio tale enzima che conferisce al latte d'asina la peculiarità di conservare a lungo inalterate le proprie caratteristiche organolettiche e microbiologiche. Infatti, è stato osservato in un campione mantenuto a regime di refrigerazione per oltre 10 giorni che i caratteri organolettici, il pH, e la flora microbica totale non mostravano variazioni significative. Nostri recenti risultati hanno permesso di determinare il contenuto di lisozima,  $\beta$ -lattoglobulina e  $\alpha$ -lattoalbumina in alcune asine riconducibili alla razza Ragusana nel corso di differenti stadi di una lattazione protratta per circa 6 mesi (Vedi Tabella 1). Si è potuto verificare che esistono delle differenze quantitative fra inizio e fine lattazione, mentre la media dell'intera lattazione è stata di circa 1.00 mg/ml per il lisozima, di 3.70 mg/ml per la  $\beta$ -lattoglobulina e di 1.80 mg/ml per la  $\alpha$ -lattoalbumina.

### Conclusioni

Le proprietà nutrizionali e nutraceutiche fino ad ora determinate per il latte di asina caratterizzano positivamente questo prodotto alimentare, rendendolo idoneo nell'alimentazione umana, soprattutto in quei soggetti lattanti con malattie allergiche al latte di altre specie, prima fra tutte quella bovina. Studi recenti, inoltre, ritengono questo alimento idoneo per la supplementazione alimentare nella dieta di soggetti in età geriatrica, nella terapia dell'ateriosclerosi o nella riabilitazione di infartuati cardiaci. Si può inoltre affermare che sinora non sono state individuate controindicazioni terapeutiche all'uso di questo alimento. In conclusione, possiamo affermare che la bibliografia fino ad oggi disponibile conferma la possibilità di utilizzare il latte di asina nell'alimentazione della prima infanzia, come già noto da secoli ma

Tabella 1  
**Determinazione quantitativa di lisozima,  $\beta$ -lattoglobulina e,  $\alpha$ -lattoalbumina in differenti fasi della lattazione.**

Giorni post parto	Lisozima (mg/ml)	$\beta$ -lattoglobulina (mg/ml)	$\alpha$ -lattoglobulina (mg/ml)
60	1.34	n.d	0.81
90	0.94	4.13	1.97
120	1.03	3.60	1.87
160	0.82	3.69	1.74
190	0.76	3.60	1.63

senza un supporto scientifico che giustificasse tale impiego. Sono ovviamente necessari, data la peculiarità di questa categoria di consumatori, ulteriori approfondimenti che consentano di qualificare e tipizzare in misura stabile e definitiva il prodotto alimentare “latte di asina”, per il quale in ogni caso gli studi in corso negli ultimi anni stanno confermando le notevoli proprietà nutrizionali e tecnologiche da renderlo a tutti gli effetti un alimento funzionale per la prima infanzia.

#### **Bibliografia consultata**

- Carroccio A., Cavataio F., Montaldo G., D’Amico D., Alabrese L., Iacono G. (2000) Intolerance to hydrolysed cow’s milk proteins in infants: clinical characteristics and dietary treatment. *Clin. Exp. Allergy*, 30, 1597-1603.
- Chiofalo B., Salimei E., Chiofalo L. (2003) Acidi grassi nel latte di asina: proprietà bionutrizionali ed extranutrizionali. *Large Animal Review*, 6, 21-26.
- Chiofalo B., Azzara V., Liotta L., Chiofalo L. (2004) *I parametri chimico-fisici del latte di asina Ragusana nel corso della lattazione*. Atti VI Congr. S.I.D.I. Campobasso, 77-84.
- Fantuz F., Vincenzetti S., Polidori P., Vita A., Polidori F., Salimei E. (2001) *Study on protein fraction of donkey milk*. Atti 14° Congr. Naz. A.S.P.A., Firenze, pp. 635-637.
- Iacono G., Carroccio A., Cavataio F., Montaldo G., Soresi M., Balsamo V. (1992) Use of ass’s milk in multiple food allergy. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 14, 177-181.
- Muraro M.A., Giampietro P.G., Galli E. (2002) Soy formulas and nonbovine milk. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 89 (Suppl.), 97-101.
- Salimei E., Fantuz F., Coppola R., Chiofalo B., Vincenzetti S., Polidori P., Varisco G. (2003) *Characteristics of donkey milk: lipid and nitrogen fractions*. Atti 38° Simp. Internaz. Zootecnia, Lodi, pp. 295-302.
- Salimei E., Fantuz F., Coppola R., Chiofalo B., Polidori P., Varisco G. (2004) Composition and characteristics of ass’s milk. *Anim. Res.*, 53, 67-78.
- Vincenzetti S., Polidori P., Salimei E., Mariani P.L., Allegri S., Cammertoni N., Vita A. (2004) Purification and identification of s<sub>1</sub>- and -caseins from ass’s milk. *Vet. Res. Comm.*, 2005, 29 (Suppl. 2), 211-213.
- Vincenzetti S., Polidori P., Fantuz F., Mariani P.L., Cammertoni N., Vita A., Polidori F. (2005) Donkey’s milk caseins characterization. *Ital. J. Anim. Sci.*, 4 (Suppl. 2), 427-429.



# Linee guida per il controllo igienico-sanitario del latte d'asina

Prof. FRANCESCA CONTE

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria*

*Sezione di Ispezione degli Alimenti di origine animale*

*Università degli Studi di Messina*

Il latte d'asina continua a suscitare vivo interesse in campo scientifico. Riceve, inoltre, apprezzamenti per le sue peculiarità e se ne sollecita la normale vendita.

La destinazione, anche di piccole quote di latte d'asina, ad una delle categorie di consumatori cosiddette "a rischio" induce a richiedere alcune indicazioni, che potrebbero acquisire la connotazione di linee guida, ai fini del controllo igienico – sanitario di questo importante prodotto.

In tale ipotesi si è confortati dall'emanazione del Regolamento 853/2004 CE (15) che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale; la norma, infatti, inserisce "altre specie" tra quelle lattifere, rendendosi conseguentemente estensibile anche a quella asinina.

Tale Regolamento definisce, tra l'altro, i criteri di sanità animale ed il tenore in germi per il latte delle "altre specie" e rinvia a disposizioni più specifiche sulla qualità del latte e dei prodotti lattiero-caseari. Dette disposizioni specifiche, già emanate, non hanno però ancora tenuto conto del latte delle "altre specie".

Riteniamo, altresì, che il necessario potenziamento degli studi potrebbe far ritenere ragionevole un rinvio per l'emanazione di eventuali norme comunitarie riguardanti il settore asinino.

Nel contempo, è nostra convinzione che l'impiego del latte d'asina meriti schematiche ed essenziali indicazioni, anche in forma di linee guida, ai fini del controllo igienico – sanitario alla produzione e nelle fasi ad essa successive.

In tale sede vengono, pertanto, delineati criteri derivanti da indagini sperimentali da noi condotte nel corso di diversi anni.

Da tempo, infatti, la nostra attenzione è rivolta allo studio del latte d'asina ottenuto in Sicilia (6, 7, 8, 9) anche in funzione del ruolo di capofila che tale regione può assumere riguardo la produzione di un alimento che trova indicazioni terapeutiche per la risoluzione di forme d'intolleranza alle proteine del latte vaccino,

ovino o caprino o d'intolleranza multipla (3).

Tale particolare destinazione costituisce un valido motivo per ritenere che la ricerca scientifica debba evolversi rapidamente, anche in virtù di quanto esplicitato dalla nuova norma comunitaria (Reg. n. 853/2004 CE)(15).

La nostra esposizione riguarderà le indagini più significative condotte fino ad oggi e messe "al servizio" di coloro che necessitano di maggiori conoscenze sull'argomento.

Nel contesto del Regolamento, infatti, il capitolo dedicato ai criteri applicabili al latte crudo si apre con la seguente precisazione: "*in attesa della fissazione di una normativa più specifica sulla qualità del latte e dei prodotti lattiero caseari, si applicano, per il latte crudo, le seguenti norme*". Quindi, all'indicazione dei criteri per il latte crudo di vacca, segue il riferimento al latte crudo proveniente da "altre specie", per il quale il tenore in germi a 30°C è fissato in un valore £1.500.000/ml, che deriva dalla media geometrica mobile calcolata su un periodo di due mesi con almeno due prelievi al mese. Fa seguito il tenore in germi a 30°C £500.000/ml, riferito, invece, al latte crudo proveniente da specie diverse da quella vaccina che sarà destinato alla fabbricazione di prodotti fatti con latte crudo mediante un processo che non comporta alcun trattamento termico (15).

Pur trattandosi di un Regolamento ispirato a criteri di semplificazione delle direttive precedentemente emanate in materia di alimenti di origine animale, non è affatto trascurabile quanto in esso si sottolinea circa la necessità di individuare "*una normativa più specifica sulla qualità del latte e dei prodotti lattiero caseari*". Tale precisazione ci troverebbe perfettamente concordi qualora fossero definiti, anche per il latte d'asina, specifici criteri utilizzabili quale strumento per una maggiore tutela dell'igiene, della sicurezza e del valore nutrizionale del prodotto, considerata la particolare destinazione che per esso si auspica da tempo.

## **Considerazioni sui preminenti parametri igienico-sanitari e fisico-chimici del latte d'asina**

La prima descrizione che seguirà riguarda uno studio che ha interessato quattro allevamenti in Sicilia. Di questi, due erano dislocati in provincia di Palermo (allevamenti A e B), uno in provincia di Catania (C),

il quarto in provincia di Enna (D). In tre di essi erano presenti soggetti di razza Ragusana; nel restante allevamento gli animali controllati erano meticcii.

In tutte le aziende le asine erano mantenute in un regime di stabulazione semibrado e soltanto nell'allevamento C era applicata la mungitura meccanica. Le asine erano alimentate con un mangime commerciale costituito essenzialmente da una miscela di cereali; era previsto, inoltre, un periodo di pascolamento, che coincideva con la stagione primaverile – estiva, in aree più o meno distanti dall'allevamento.

I prelievi hanno riguardato il latte di singoli animali; sono stati effettuati con cadenza quindicinale durante i primi due mesi, successivamente mensile, per una media di 6-8 mesi di lattazione (in alcuni soggetti i prelievi erano effettuati a partire dalla fase intermedia di lattazione fino a 10 mesi). Complessivamente sono state prese in considerazione 27 asine pluripare.

Ciascun prelievo di latte era preceduto dalla separazione dei puledri dalle madri per almeno tre ore. Il campionamento è avvenuto in seguito alla mungitura completa della lattifera.

I campioni di latte sono stati esaminati per i seguenti parametri, con le metodiche indicate contestualmente:

- carica batterica totale (CBT) (Bactoscan FC – Foss A/S, Hillerod, Danimarca);
- conteggio delle cellule somatiche (CCS) (Fossomatic FC - Foss A/S, Hillerod, Danimarca);
- percentuale di grasso (GRS), lattosio (LTS), proteine totali (PRT) (Milkoscan ST 6000 - Foss A/S, Hillerod, Danimarca);
- tenore in urea in pHmetria differenziale [norma ISO/DIS 14637/IDF 195:2001 (14)];
- pH (metodo potenziometrico; pHmetro Hanna Instr.);
- acidità titolabile/50 ml di latte ( $^{\circ}\text{SH}/50$ ) in pHmetria differenziale.

I campioni di latte sono stati sottoposti, inoltre, ad indagini batteriologiche per la ricerca di *Salmonella sp.* e *Listeria sp.*, secondo metodiche ufficiali di analisi (1), e per la ricerca di *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Pasteurella sp.*, quali potenziali agenti mastidogeni. Per questi ultimi sono state seguite le indicazioni di Carter and Cole (4) e del National Mastitis Council (12).

In tabella 1 sono riportati i valori medi dei parametri igienico-sanitari e chimico-fisici di tutte le asine controllate nei quattro allevamenti.

Il tenore in cellule somatiche ed in carica batterica totale non si è sostanzialmente discostato da quanto segnalato in nostre precedenti indagini (6, 7, 8). Nella maggioranza dei soggetti, inoltre, gli indici sono risultati inferiori a quelli riportati da Coppola et al. (2002) (10) per asine munte meccanicamente.

Nell'allevamento C la percentuale media in materia grassa è risultata inferiore rispetto a quella delle restanti aziende. Nel suddetto allevamento, inoltre, il tenore in grasso era pressoché sovrapponibile a quanto riferito da Salimei et al. (2001) (18); nelle aziende A, B e D le medie rientravano nel range indicato a suo tempo da Anantakrishnan (1941) (2) per il latte prodotto in India. Rispetto a quest'ultimo, invece, il tenore medio in proteine delle tre aziende era più elevato. Il confronto con il tenore medio in proteine segnalato da Salimei et al. (2001) ha fatto rilevare un valore sovrapponibile per le aziende C e D; nell'allevamento A esso era superiore, ed inferiore nell'allevamento C.

Circa il contenuto in lattosio, i valori trovati sono risultati superiori a quelli indicati da Anantakrishnan (1941) (2); essi erano, invece, di poco inferiori alla media indicata da Salimei et al. (2001) (18).

Le percentuali medie riferite all'urea sono risultate più elevate rispetto al valore riportato da Anantakrishnan (1941) (2), secondo il quale tale indice sarebbe normalmente doppio rispetto a quello del latte di vacca.

Per il pH sono stati trovati valori medi leggermente più bassi rispetto a quelli riportati in precedenti indagini (6, 7, 8) ed a quelli di altri autori (17,7), mentre le differenze tra i valori dei diversi allevamenti non sono state ritenute sostanziali.

La variazione mensile della carica batterica del latte ha fatto registrare indici elevati per il mese di marzo (circa 6 punti logaritmi) maggio e giugno (circa 5,5 punti logaritmi), mentre per i restanti mesi i valori medi hanno oscillato intorno al valore di 5 punti, corrispondenti a circa 100.000 ufc/ml. E' verosimile ritenere che detto andamento sia correlabile ad un rapido cambio di stagione che ha indotto un aumento della temperatura verso valori più favorevoli alla maggiore pullulazione della flora batterica di derivazione ambientale. E' stato dimostrato, infatti, come esista un'interazione tra temperatura ambientale ed affinità specifica dei batteri per i substrati necessari alla loro crescita (13).

L'andamento della CBT nel corso della lattazione non ha invece presentato un trend significativo. Le cellule somatiche del latte hanno avuto un andamento mensile che ha presentato i valori più alti (superiori a 4,5 punti log) nel periodo maggio-luglio, mentre valori inferiori

si sono riscontrati nei restanti mesi. Ciò potrebbe essere testimonianza di un lieve stato reattivo della mammella alle modificazioni ambientali connesse al periodo primaverile – estivo (variazione della razione alimentare e della temperatura esterna), cui è seguita una fase di adattamento e di stabilizzazione.

Le cellule somatiche del latte hanno mostrato, nel corso della lattazione, un trend più costante rispetto alle variazioni stagionali.

L'andamento stagionale della percentuale di grasso ha fatto registrare dei valori alquanto altalenanti nel periodo marzo-giugno. Risulta piuttosto difficile correlare detto andamento ad influenze di natura alimentare o zootecnica in generale. Sarebbe possibile ipotizzare che il fenomeno possa essere correlato all'incompleta o irregolare estrazione del latte dalla mammella dell'asina.

Anche le variazioni della percentuale di grasso nel corso della lattazione, sebbene meno irregolari, hanno avuto un andamento non ben giustificabile, anche se è stato osservato un trend decrescente all'aumentare della lattazione, in analogia con quanto segnalato per la cavalla (11).

Le variazioni mensili a carico del lattosio erano comprese intorno a valori di poco superiori a 4 decimi percentuali (da 6,4% a 6,8%); esse non avevano un particolare andamento stagionale. Al contrario, l'andamento del disaccaride nel corso della lattazione era sovrapponibile a quello tipico di una curva di lattazione, ossia crescente fino al 4° mese dal parto e, successivamente, decrescente fino all'asciutta. Sebbene il controllo della produttività degli animali non rientrasse fra gli obiettivi della nostra indagine, è ipotizzabile che la curva di lattazione media delle asine avesse un andamento simile a quello della percentuale di lattosio. In ciò la specie asinina può essere paragonata alle specie lattifere di maggiore interesse zootecnico nelle quali il lattosio è positivamente correlato con la produzione del latte (20, 21) per effetto della sua nota funzione osmotica (17).

L'andamento stagionale della percentuale di proteine ha evidenziato un latte più ricco durante la stagione primaverile. È noto come la proteina alimentare eserciti una notevole influenza sulla percentuale di proteina del latte. Poiché il sistema di allevamento delle asine prevedeva un ampio periodo di pascolamento, soprattutto durante i mesi primaverili ed estivi, quando la disponibilità foraggera è massima, è ipotizzabile che nel periodo marzo-giugno l'elevata quota di proteina nella dieta abbia influenzato positivamente

la proteina del latte. L'abbondante disponibilità foraggera fornisce alle asine una quantità di proteine spesso non completamente utilizzate dal metabolismo azotato, che vengono escrete anche sotto forma di urea nel latte. Relativamente all'andamento delle proteine nel corso della lattazione va sottolineata la progressiva diminuzione di tale componente. Risultati analoghi sono stati evidenziati da altri autori sia sul latte d'asina (2, 7) che di cavalla (22).

Con riferimento ai parametri fisici, il pH e l'acidità titolabile hanno mostrato andamenti stagionali differenti. Il pH è risultato molto più variabile e con picchi difficilmente interpretabili, mentre il trend dell'acidità titolabile è apparso molto più regolare, ad esclusione del mese di marzo.

Nel corso della lattazione è stata evidenziata una progressiva diminuzione del pH; per l'acidità titolabile del latte si è osservata una fase decrescente seguita da una fase crescente.

Per ciò che concerne le indagini batteriologiche, è da sottolineare il mancato isolamento di *Listeria sp.* e *Salmonella sp.*, nel corso dell'intero studio.

Tra i potenziali agenti mastidogeni, *Staphylococcus aureus* è stato isolato dai 4 soggetti dell'allevamento A nel corso di un campionamento; il microrganismo è stato isolato solo da due soggetti dopo un mese; soltanto in un'asina lo stesso batterio è stato rinvenuto per tre mesi consecutivi. La stessa specie è stata isolata da due asine appartenenti all'allevamento D, per due differenti campionamenti; *Staphylococcus intermedius* è stato individuato in un soggetto in un ulteriore campionamento. Presso l'allevamento B sono stati individuati *Streptococcus dysgalactiae* in due asine, per due campionamenti consecutivi, e *Streptococcus epidermidis*, in un caso, durante un solo campionamento. In tutti i campioni le cariche batteriche erano sempre inferiori a  $1.47 \log \text{ufcml}^{-1}$ .

L'isolamento di tali specie batteriche non ha trovato riscontro in anomali indici citologici o in segni di flogosi mammaria.

Il latte d'asina rappresentato nel nostro studio ha mostrato un assetto alquanto variabile, specie sotto il profilo chimico-fisico.

Alcuni elementi possono essere chiamati in causa per giustificare le oscillazioni dei parametri testati: tipo di management aziendale, variabilità individuale degli animali, incompleto svuotamento della mammella e possibili variazioni connesse alle tecniche analitiche.

Una prima osservazione riguarda il tenore medio in urea del latte esaminato in quanto tale parametro

non risulta essere stato frequente oggetto di osservazioni nella specie asinina.

Com'è noto, esso è correlato al tipo di razione alimentare e rappresenta un importante elemento per definire lo stato metabolico - nutrizionale degli animali in lattazione. I risultati da noi ottenuti potrebbero rendere quasi inesistenti le differenze tra specie asinina e vaccina, al contrario di quanto sostenuto da Anantkrishnan (1941) (2).

Il tenore in cellule somatiche ed in carica batterica totale del latte da noi esaminato conferma ancora una volta come tali parametri possano discostarsi notevolmente da quelli già noti per le più comuni specie lattifere. Sono da ritenersi, però, eccezionali i valori di carica batterica totale rilevati nell'allevamento C, per il quale la mungitura meccanica potrebbe avere rappresentato un elemento di turbamento del microbismo dei campioni. E' necessario, però, sottolineare

come i livelli di batteri totali non debbano essere esclusivamente correlati al tipo di mungitura, sulla quale sono auspicabili ulteriori approfondimenti scientifici, in considerazione del fatto che la mungitura meccanica diviene pratica indispensabile per la gestione di allevamenti di una certa consistenza.

I risultati delle indagini batteriologiche ed il tenore in cellule somatiche hanno testimoniato il buono stato di salute degli animali e la corretta gestione delle pratiche aziendali facendo ritenere più che valida la qualità del latte esaminato.

Da ultimo, non sarebbe da escludere come lo status microbico del nostro latte abbia potuto risentire dell'attività del lisozima che, nel prodotto asinino, risulta più elevata rispetto ad altre specie e persistente nel tempo (9). Tale aspetto, ancora in fase di studio, non è di trascurabile importanza ai fini del controllo igienico-sanitario del latte d'asina.

Tabella 1

**Valori medi dei parametri igienico sanitari e fisico-chimici dei campioni di latte dei quattro allevamenti**

		PARAMETRI							
<i>Allevam. Soggetti</i>		<i>CBT</i> (log cfu ml <sup>-1</sup> )	<i>CCS</i> (log ml 10 <sup>-1</sup> )	<i>GRS</i> (mg/100 ml)	<i>LTS</i> (mg/100 ml)	<i>PRT</i> (mg/100 ml)	<i>UREA</i> (mg/dl)	<i>pH</i>	<i>°SH/50</i>
<b>A</b>	<b>1</b>	4,856	4,830	0,765	6,177	1,908	32,17	6,981	1,346
	<b>2</b>	4,763	4,726	0,699	6,338	1,901	34,246	6,988	1,323
	<b>3</b>	3,766	4,413	0,647	6,334	1,951	35,906	7,046	1,264
	<b>4</b>	3,628	4,614	0,726	6,370	1,972	36,836	7,045	1,280
	<b>Media</b>	<b>4,271</b>	<b>4,660</b>	<b>0,712</b>	<b>6,310</b>	<b>1,931</b>	<b>34,932</b>	<b>6,994</b>	<b>1,312</b>
<b>B</b>	<b>1</b>	4,598	3,901	0,684	6,767	1,959	36,521	6,866	1,721
	<b>2</b>	4,743	3,822	0,554	6,799	1,860	33,584	6,975	1,316
	<b>3</b>	4,55	3,991	0,568	6,890	2,070	35,194	7,044	1,431
	<b>4</b>	3,859	3,868	0,495	6,542	1,441	33,986	6,906	1,286
	<b>5</b>	3,855	3,896	0,301	6,806	1,546	31,701	6,851	1,230
	<b>6</b>	3,896	4,20	0,464	6,576	1,757	27,941	7,075	1,471
	<b>7</b>	3,664	3,944	0,310	6,866	1,59	25,451	6,868	1,242
	<b>8</b>	3,845	4,356	0,432	6,736	1,502	32,372	6,830	1,016
	<b>9</b>	3,791	3,954	0,568	6,560	1,513	25,14	6,924	1,448
	<b>10</b>	4,079	3,943	0,465	6,77	1,97	40,375	6,905	1,49
<b>Media</b>	<b>4,152</b>	<b>3,931</b>	<b>0,501</b>	<b>6,722</b>	<b>1,710</b>	<b>31,023</b>	<b>6,941</b>	<b>1,362</b>	
<b>C</b>	<b>1</b>	5,947	4,947	0,302	6,459	1,667	36,533	6,96	1,404
	<b>2</b>	5,908	4,355	0,251	6,639	1,773	29,47	7,236	1,306
	<b>3</b>	5,843	4,406	0,290	6,548	1,623	28,733	6,831	1,332
	<b>4</b>	5,771	4,150	0,461	6,730	1,696	39,50	7,178	1,228
	<b>5</b>	5,891	4,548	0,331	6,575	1,768	40,320	6,870	1,506
<b>Media</b>	<b>5,632</b>	<b>4,521</b>	<b>0,325</b>	<b>6,584</b>	<b>1,712</b>	<b>34,542</b>	<b>6,990</b>	<b>1,362</b>	
<b>D</b>	<b>1</b>	3,955	3,794	0,517	6,782	1,494	31,085	7,025	1,075
	<b>2</b>	3,698	3,886	0,545	7,000	1,718	34,655	7,040	1,163
	<b>3</b>	3,698	3,919	0,695	6,766	1,601	25,535	7,051	1,163
	<b>4</b>	3,893	3,782	0,785	6,755	1,61	30,320	7,011	1,195
	<b>5</b>	3,698	3,767	0,485	6,742	1,502	27,630	7,035	1,295
	<b>6</b>	3,778	3,892	0,590	6,695	1,542	29,764	7,012	1,086
	<b>7</b>	3,741	3,974	0,963	6,72	1,56	26,958	7,031	1,263
	<b>8</b>	3,714	3,827	0,540	6,768	1,786	32,714	6,90	1,512
<b>Media</b>	<b>3,781</b>	<b>3,862</b>	<b>0,652</b>	<b>6,781</b>	<b>1,601</b>	<b>29,902</b>	<b>7,012</b>	<b>1,201</b>	

Alla luce dei risultati riportati in questa sede, come anche in altre occasioni, riteniamo che il valore medio di carica batterica a 30°C, pari a 1.500.000/ml, considerato accettabile dal Regolamento 853/2004 per il latte crudo di "altre specie" (15), sia estremamente elevato e poco adeguato al latte d'asina, specie se utilizzato per scopi terapeutici. Tale considerazione, dopo ulteriori conferme, non sarebbe da trascurare in fase di applicazione del Regolamento 853/2004 e/o di emanazione di ulteriori norme specifiche sulla qualità del latte.

I risultati riferiti ai microrganismi presi in considerazione nel presente studio potrebbero costituire, altresì, il supporto per la valutazione del rischio microbiologico in fase di eventuale applicazione del sistema HACCP alla filiera del latte d'asina.

### Il lisozima: uno tra i componenti essenziali del latte d'asina.

Il lisozima, fra le tre principali proteine sieriche negli equidi domestici (23), è presente nel latte asinino in quote di gran lunga superiori a quelle del latte di cavalla, di vacca ed anche umano (24). In quest'ultimo, lisozima e lattoferrina sono ritenuti i più importanti componenti per l'immunità passiva del neonato; del lisozima è anche nota una potente attività battericida (25). L'utilizzazione del latte asinino per fini terapeutici, anche in funzione della forte similitudine con il secreto umano, ci ha indotto ad approfondire lo studio di alcuni aspetti concernenti l'enzima.

L'indagine illustrata di seguito propone un primo screening sull'attività del lisozima del latte d'asina nel corso della lattazione, nel tentativo di evidenziarne le variazioni, soprattutto in virtù del suo potenziale ruolo immunologico ed antibatterico.

I campioni di latte sono stati prelevati da due gruppi di asine: il primo (9 soggetti) (A) era sito in Lombardia; il secondo (5 animali) (B) si trovava in Sicilia. Le asine erano testate con cadenza quasi mensile, da luglio-agosto 2005 a febbraio-marzo 2006. I campioni di latte sono stati processati per la determinazione dell'attività del lisozima mediante EnzChek Lysozyme Assay Kit (E-22013) (Molecular Probes, Invitrogen, Eugene, USA), dopo opportune diluizioni di ciascun campione. Prima del congelamento, è stata effettuata la determinazione della flora mesofila totale aerobia (FMT) secondo le comuni tecniche di microbiologia alimentare.

Dalle figure 1 e 2 è possibile desumere gli andamenti dell'elevata attività del lisozima per i due gruppi di animali.

In tab. 1 si osservano le medie dei valori dell'attività dell'enzima e della FMT per gli animali testati. Nel gruppo A i valori massimi e minimi erano di 9086.70 e 3083.91 U/ml, rispettivamente; nel gruppo B i valori erano 6371.90 e 4237.10 U/ml, rispettivamente.

L'attività del lisozima ha mostrato valori costantemente molto elevati in tutti i soggetti, risultando anche fortemente stabile nel tempo. La FMT, quasi costantemente esigua, può avere subito l'influenza di detta attività; malgrado ciò, in pochi campioni, gli alti livelli di FMT, anche se associati ad una forte attività enzimatica, hanno evidenziato l'influenza dell'igiene della raccolta del latte. Un'attività enzimatica significativamente più elevata durante l'estate potrebbe rappresentare un aspetto da non trascurare ai fini dell'impiego del latte. Al contrario di quanto dimostrato per il latte umano (25), nel nostro caso non è stato possibile tracciare una precisa dinamica dell'attività dell'enzima durante la lattazione. Questi primi risultati sono da ritenersi oltremodo significativi, quale contributo alla conoscenza di un argomento di notevole impatto pra-

Figura 1  
Attività del lisozima (U/ml) nel gruppo A

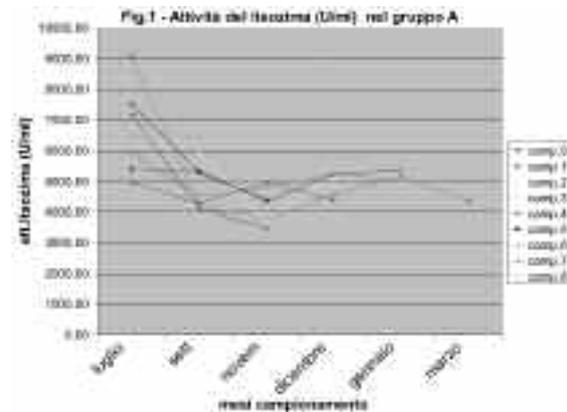
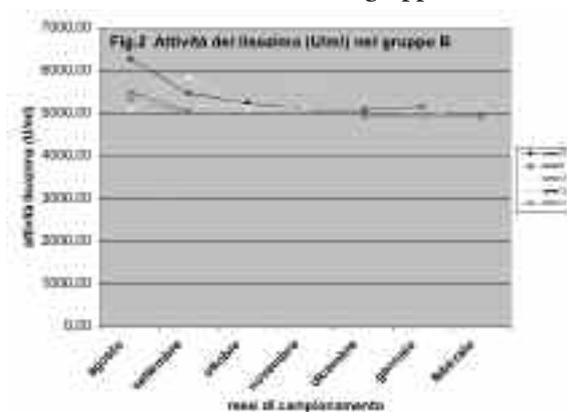


Figura 2  
Attività del lisozima (U/ml) nel gruppo B



tico. Essi, ad esempio, fanno propendere per l'utilizzazione del latte d'asina crudo; in tal modo, infatti, l'enzima manterrebbe la forte e persistente attività e, quindi, le sue funzioni intrinseche. Come tale, il prodotto con un impeccabile status igienico-sanitario, può costituire un idoneo sostituto del latte materno anche per fini terapeutici. Le peculiarità dell'enzima del latte d'asina descritte in questa sede e l'elevata quantità ne potrebbero rendere fortemente potenziate le proprietà immunologiche ed antibatteriche rispetto al latte umano.

#### ***Un importante indice merceologico: il punto crioscopico***

Da tempo il punto crioscopico (PC) è utilizzato per la verifica della genuinità del latte e rappresenta un indice di notevole importanza sotto il profilo merceologico, visto che è il più indicato per svelare la frode di annacquamento del latte in quanto è il parametro soggetto a variabilità molto limitata rispetto ad altri indici chimico-fisici.

Le variazioni del PC sono principalmente riconducibili ai cosiddetti fattori "naturali" (razza, stadio di lattazione, tipo di alimentazione, modalità di assunzione dell'acqua, orario e numero di mungiture, ecc (35) ed ai fattori tecnologici (tipo di mungitura e modalità di conservazione del latte in stalla, trattamenti di lavorazione del latte in stabilimento, responsabili del cosiddetto annacquamento "tecnologico") (30).

Nel substrato latte, come in ogni sistema acquoso, il valore del PC dipende dalla concentrazione dei costituenti presenti in soluzione vera. Il lattosio ed i cloruri, come altri sali, sarebbero i principali responsabili della riduzione del PC; il lattosio rappresenterebbe il costituente maggiormente determinante per tale effetto (31, 34, 35). Secondo Dillier-Zulaf (30), il lattosio ed i cloruri sono responsabili per circa l'80% del valore del punto crioscopico; calcio e fosfati, per circa il 20%.

Grasso e proteine insolubili non hanno, invece, alcun effetto quantificabile (34).

Facendo seguito alle indagini sulla qualità del latte d'asina, in questa sede, viene fatto il punto sullo stato attuale delle conoscenze in nostro possesso sul punto crioscopico del prodotto.

Quest'ultimo, infatti, potrà acquisire un'importanza rimarchevole sotto il profilo commerciale, rappresentando un valido strumento per la verifica della genuinità del latte asinino il cui costo, in una nicchia di mercato ancora ristretta, attualmente supera di gran lunga quello del latte vaccino a motivo delle proprietà terapeutiche che ad esso sono riconosciute.

Il presente contributo riguarda un monitoraggio del PC cui è stata associata la valutazione del tenore in lattosio, scelto quale parametro target in quanto è il componente più rappresentativo del latte d'asina. Ciò, nel tentativo di verificare se il disaccaride eserciti la propria influenza sul PC, al pari di quanto indicato per il latte di vacca (35).

E' stato studiato il latte di singoli animali di tre allevamenti presenti in Sicilia (A, B, C). Nelle prime due aziende il parametro è stato monitorato durante il periodo marzo - settembre ed ha riguardato 4 asine nell'allevamento A e 13 nell'allevamento B. Presso l'allevamento C è stato controllato il latte di 7 asine nell'intervallo agosto - dicembre.

I campioni sono stati sottoposti alla determinazione del punto crioscopico con Crioscopio Astor 4000 SE (Astori, Poncareale, BS) facendo ricorso al metodo di prova previsto dalla normativa vigente (4). La misurazione del tenore in lattosio è stata effettuata con apparato Milkoscan FT 6000 (Foss A/S, Hillerod, Danimarca).

Nelle tabelle 1 e 2 sono riportati i valori medi, massimi, e minimi ( $\pm$ deviazione standard:d.s), rispettivamente, per il punto crioscopico ed il lattosio dei campioni esaminati.

Tabella 1

#### **Valori medi riferiti all'attività del lisozima (U/ml) e della FMT (log ufc/ml) nei due allevamenti**

<b><i>Campione</i></b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
Att.lisoz.	5194.25	4968.03	4352.22	4659.53	5046.52	5110.42	4922.65
FMT	2.88	3.36	1.97	1	1	3.04	2.74
<b><i>Campione</i></b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>
Att.lisoz	5607.85	5556.59	5411,45	5043,82	5309,05	5264,48	5022,22
FMT	2.27	2.88	5.41	5.20	5.39	5.62	4.90

Una considerazione immediata riguarda il tenore medio del PC che, in linea di massima, non si è discostato eccessivamente dai valori noti per il latte vaccino.

Le variazioni delle medie dell'indice crioscopico sono state molto limitate nel corso dei campionamenti presso gli allevamenti A e B; esse erano poco più ampie per i campioni dell'allevamento C.

Lievemente più accentuata è stata la variabilità della percentuale media in lattosio, specie per i campioni derivanti dagli allevamenti A e C.

Con riferimento al periodo di prelievo, il PC era più elevato durante i mesi estivi nei campioni di latte dell'allevamento B. Tale tendenza è stata, invece, molto sfumata per i campioni prelevati presso il primo allevamento.

Le rilevazioni riferite al periodo autunno – invernale, presso l'allevamento C, hanno evidenziato un abbassamento del PC.

Il confronto tra i valori medi del PC e quelli riferibili al lattosio ha consentito di individuare una frequente relazione tra i due parametri negli allevamenti A e C. Infatti, all'aumento delle percentuali medie del disaccaride corrispondeva quasi costantemente l'abbassamento del punto di congelamento; il fenomeno opposto è stato osservato al ridursi della percentuale del disaccaride. Detta relazione è stata pressochè assente nei campioni dell'azienda B.

L'andamento del punto crioscopico, durante il periodo estivo, ha richiamato alcuni dati presenti in letteratura per il latte di vacca (36). In ulteriori segnalazioni tale modifica è stata evidenziata particolarmente durante il periodo primaverile fino al solo esordio della stagione estiva, rendendosi più sfumata nel corso dell'estate inoltrata (29). Le variazioni stagionali sono state messe in risalto in un ampio studio condotto nel corso di 7 anni nell'Ontario; in esso è stato mostrato un costante andamento del PC del latte vaccino di massa che era più elevato in giugno e luglio e tendeva ad abbassarsi in dicembre – gennaio (33).

La variazione verso l'alto di tale indice sarebbe da ricondurre all'aumento della temperatura ambientale ed all'utilizzo di foraggio verde (27, 28); viceversa, il differente regime alimentare cui sono sottoposti gli animali nella stagione autunno – invernale rappresenta la principale motivazione che serve a giustificare l'abbassamento del PC. Anche per quest'ultimo fenomeno i nostri dati concordano con quanto segnalato in letteratura.

Il prelievo dei campioni dalle singole asine non sembra avere influito, in linea di massima, sulla rela-

zione tra il periodo di osservazione e l'indice crioscopico; questo ha consentito il confronto tra i nostri dati e quelli presenti in letteratura che si riferiscono principalmente a latti di massa.

Variazioni individuali, o fattori connessi ad una differente zona di allevamento, potrebbero essere chiamati in causa, invece, per giustificare la mancata relazione tra i due parametri nei campioni derivanti dall'allevamento B.

Una maggiore standardizzazione delle condizioni di management aziendale (razionale gestione degli animali in lattazione, perfezionamento delle tecniche di alimentazione, tipo e modalità di mungitura, ecc.) potrebbe limitare le irregolari oscillazioni del PC nel corso dell'anno.

In tali condizioni, gli ulteriori approfondimenti sull'argomento potrebbero riguardare anche la valutazione dell'effetto dei sali solubili sul PC del latte, con particolare riferimento ai cloruri; ciò, sebbene, rispetto al lattosio, i cloruri nel latte d'asina potrebbero non esercitare l'effetto che è stato prospettato per il latte di vacca, in conseguenza del modestissimo contenuto in cloro [(0.037% rispetto allo 0.10% del latte vaccino) (27, 32)].

Se tale ipotesi fosse confermata, sarebbe possibile sostenere come il disaccaride sia fortemente condizionante per il PC del latte asinino, rendendone i valori simili a quelli del prodotto vaccino per un effetto di compensazione.

Al contrario, sarebbe verosimile pensare che nella specie vaccina, il cui latte è caratterizzato da un tenore in lattosio più basso, il PC risenta maggiormente dell'influenza esercitata dal contenuto in cloruri, calcio e fosforo. Quanto detto è ipotizzabile a maggior ragione per il latte ovino e caprino, il cui tenore in cloro, calcio e fosforo, più elevato rispetto a quello del prodotto vaccino, contribuirebbe in modo determinante ad abbassare il PC.

In conclusione, riteniamo che i nostri dati saranno suscettibili di un aggiornamento a seguito di ulteriori valutazioni su campioni derivanti anche da allevamenti siti in differenti zone geografiche e che potranno riguardare il latte asinino di massa.

Circa l'eventuale definizione di un indice utilizzabile per la formulazione di specifici criteri normativi, riteniamo che una solida ed affidabile base scientifica potrà essere fornita, nel tempo, dopo la ricognizione di dati numericamente rappresentativi che ne consentano anche la valutazione sotto il profilo statistico.

### Le nostre considerazioni ... non conclusive

Le note sperimentali riportate possono essere considerate un ulteriore approfondimento delle cognizioni sul latte di equide prodotto in Sicilia e, nel contempo, hanno l'intento di fornire informazioni rappresentative derivanti dalla numerosità delle osservazioni effettuate. Difatti, l'eventuale definizione dei criteri normativi correlati anche alla qualità del latte d'asina dovrà essere basata su fondamenti scientifici e su un significativo numero di dati riferiti ai suoi essenziali parametri di composizione ed a quelli correlati alla qualità igienico-sanitaria. Inoltre, non è da trascurare il fatto che la disponibilità di dati, a sua volta, dovrebbe essere proporzionata alla consistenza degli animali lattiferi che sono presenti in un determinato ambito, sia esso regionale che nazionale.

In conclusione, è possibile auspicare che l'attuale interesse per il latte di equide giovi all'ottimizzazione delle condizioni del management aziendale anche per il settore asinino. Ciò consentirà di ottenere buoni standard produttivi e, conseguentemente, una più uniforme

qualità chimico-fisica del latte, sebbene detto settore dovrebbe essere considerato come comparto a se stante a motivo delle peculiarità che contraddistinguono la specie animale ed il latte da essa prodotto.

Infine, la commercializzazione del latte d'asina in ambiti specifici, quale *prodotto dietoterapeutico e/o alimento per la prima infanzia*, sarebbe da considerare ancora un "miraggio".

La realizzazione di tali obiettivi, infatti, necessita di propedeutici interventi che comporteranno la messa in atto di ferventi attività, svolte nel tempo, con la dovuta dedizione e che escludono logiche di mercato non ancora ipotizzabili per il comparto asinino.

### Bibliografia

- American Public Health Association. "Standard methods for the examination of dairy products". R.T. Marshall PhD, Editor, 16<sup>th</sup> Edition, 1992.
- Anantakrishnan C.P. "Etudes sur le lait d'ânesse". Journal of Dairy Research, 12, 119 - 130, 1941.
- Carroccio A., Cavataio F., Montalto G., D'Amico D., Alabrese L., Iacono G. "Intolerance to hydrolysed cow's milk protein in infants: clinical characteristics and dietary treat-

Tabella 1

### Valori medi, massimi, minimi ( $\pm$ d.s.) per il punto crioscopico (in °C) dei tre allevamenti

	ALLEVAMENTO A				ALLEVAMENTO B				ALLEVAMENTO C			
	Media	Massimo	Minimo	$\pm$ d.s.	Media	Massimo	Minimo	$\pm$ d.s.	Media	Massimo	Minimo	$\pm$ d.s.
Marzo	-0.522	-0.522	-0.524	0.0009	-	-	-	-	-	-	-	-
Aprile	-0.519	-0.492	-0.530	0.0183	-0.528	-0.526	-0.529	0.0017	-	-	-	-
Maggio	-0.527	-0.526	-0.528	0.0008	-	-	-	-	-	-	-	-
Giugno	-0.531	-0.506	-0.538	0.0167	-0.522	-0.506	-0.542	0.0113	-	-	-	-
Luglio	-0.532	-0.528	-0.536	0.0034	-0.508	-0.494	-0.53	0.0094	-	-	-	-
Agosto	-0.520	-0.525	-0.535	0.0070	-0.512	-0.504	-0.528	0.0077	-0.528	-0.514	-0.542	0.010
Settembre	-	-	-	-	-0.522	-0.516	-0.524	0.0041	-0.525	-0.512	-0.534	0.010
Ottobre	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.514	-0.502	-0.528	0.011
Novembre	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.540	-0.529	-0.552	0.008
Dicembre	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.530	-0.524	-0.538	0.0060

Tabella 2

### Valori medi, massimi, minimi ( $\pm$ d.s.) per il lattosio (in mg/100 ml) dei tre allevamenti

	ALLEVAMENTO A				ALLEVAMENTO B				ALLEVAMENTO C			
	Media	Massimo	Minimo	$\pm$ d.s.	Media	Massimo	Minimo	$\pm$ d.s.	Media	Massimo	Minimo	$\pm$ d.s.
Marzo	6.303	6.302	6.286	0.016	-	-	-	0.166	-	-	-	-
Aprile	6.247	6.382	5.837	0.273	6.735	6.886	6.762	0.060	-	-	-	-
Maggio	6.362	6.39	6.33	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-
Giugno	6.38	6.44	6.25	0.087	6.813	7.21	6.55	0.265	-	-	-	-
Luglio	6.322	6.82	5.49	0.388	6.765	6.89	6.37	0.158	-	-	-	-
Agosto	6.695	6.81	6.58	0.162	6.935	7.27	6.83	0.197	6.425	6.762	6.015	0.249
Settembre	-	-	-	-	-	-	-	-	6.164	6.61	5.446	0.453
Ottobre	-	-	-	-	-	-	-	-	6.192	6.487	5.906	0.232
Novembre	-	-	-	-	-	-	-	-	6.212	6.751	5.782	0.436
Dicembre	-	-	-	-	-	-	-	-	6.080	6.568	5.788	0.237

- ment". Clin. and Experim. Allergy, 30, 1597 – 1603, 2000
- Carter G.R. and Cole J.R. "Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology". 5<sup>th</sup> Ed., Academic Press, U.S.A., 1990.
  - Chiofalo B., Azzara V., Lotta L., Chiofalo L. "I parametri chimico-fisici del latte di asina Ragusana nel corso della lattazione". Atti Congr. S.I.D.I., 6, 77-84, 2004.
  - Conte F., Minniti A., Scatassa M.L., Monsù G. "Indagine preliminare sulla qualità merceologica ed igienico-sanitaria del latte di asine allevate in Sicilia". Atti S.I.S.Vet., 56, 383 –384, 2002.
  - Conte F., Scatassa M.L., Monsù G., Minniti A., Calabrò A. "Rilievi su composizione e qualità igienico – sanitaria del latte di asine allevate in Sicilia". Atti Conv. Naz. A.I.V.I., 13, 237–241, 2003.
  - Conte F., Scatassa M.L., Monsù G., Lo Verde V., Finocchiaro A., De Fino M. "Monitoring of safety and quality of donkey's milk". Proceeding of the International Conference Veterinary Public Health and Food safety. Towards a risk based chain control, 58-59, 2004.
  - Conte F. "Stabilità del latte d'asina crudo e pastorizzato". Atti Conv. Naz. A.I.V.I., 15, 221 – 225, 2005
  - Coppola R., Salimeni E., Succi M., Sorrentino E., Nanni M., Ranieri P., Belli Blanes R., Grazia L. "Behaviour of Lactobacillus rhamnosus strains in ass's milk". Annals Microbiol., 52, 55–60, 2002.
  - Mariani P., Martuzzi F., Catalano A.L. "Composizione e proprietà fisico-chimiche del latte di cavalla: variazione dei costituenti azotati e minerali nel corso della lattazione". Annali Fac. Med. Vet., Parma, 13, 43-58, 1993.
  - National Mastitis Council Inc. "Laboratory handbook on bovine mastitis". Revised edition, U.S.A., 1999.
  - Nedwell D.B. "Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature". FEMS Microbiol. Ecology, 30, 101 – 111, 1999.
  - Norma ISO/DIS 14637/IDF 195:2001. Determination of urea content enzymatic method using the pH difference in pH measurement.
  - Regolamento (CE) N. 853/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale. Gazzetta ufficiale dell'Unione Europea L 139/55 IT, 30.4.2004.
  - Salimei E. "Latte di equide: dalla storia, una proposta dietetica e terapeutica". Atti Conv. "Nuove acquisizioni in materia di alimentazione, allevamento e allenamento del cavallo sportivo", 20 – 30, 1999
  - Salimei E., Belli Blanes R., Marano R., Ferretti E., Varisco G., Casamassima D. "Produzione quanti – qualitativa di latte di asina: risultati di due lattazioni". Proceedings of the XXXV International Symposium of Società Italiana per il Progresso della Zootecnia, 315 – 322, 2000
  - Salimei E., Fantuz F., Coppola R., Chiofalo B., Polidori P., Varisco G. "Composition and characteristics of ass's milk". Anim. Res., 53, 67-68, 2004.
  - Salvadori del Prato O. In Trattato di Tecnologia casearia. Ed. Edagricole, Bologna, 1998.
  - Todaro M., Scatassa M.L., Giaccone P. "Multivariate factor analysis of Girgentana goat milk composition". Ital. J. Anim. Sci., 4, 129-136, 2005.
  - Ullrey D.E., Struthers R.D., Hendricks D.G., Brent B.E., "Composition of mares milk". J. Anim. Sci., 25, 217-222, 1966.
  - Ying C., Wang H-T., Hsu J.-T. "Relationship of somatic cell count, physical, chemical and enzymatic properties to the bacterial standard plate count in dairy goat milk". Liv. Prod. Sci., 74, 63–77, 2002.
  - Herrouin M., Mollè D., Fauquant J., Ballaestra F., Maubois J.L., Léonil J.(2000) J.Prot.Chem.,19,105-115
  - Salimei E., Belli Blanes R., Marano A., Varisco G. (2001), website:<http://www.veterinarilombardia.it/chitone/01trim4/def.htm>
  - Montagne P., Cuillière M., Molè C.M., Bènè M.C., Faure G.C. (2000) J.Food Comp.and Analysis, 12,127-137.
  - Anantakrishnan C.P.(1941) Etudes sur le lait d'ânesse. The Journal of Dairy Research, 12, 119 – 130,
  - Bona M.C. e Bertolla S. (1984). Osservazioni del punto crioscopico del latte bovino in Piemonte. Il Mondo del latte, 142 – 145
  - Casali D., Contarini G., Francani R., Toppino P.M., Carini S. (1988). Indagine sul punto crioscopico del latte prodotto in Lombardia nell'anno 1986. Il Latte, 13, 584-592
  - Decreto de Ministero della Sanità del 26/03/1992. Attuazione della Decisione n. 91/180/CEE concernente la fissazione di metodi di analisi e prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente. Suppl. Ord. alla G.U. n. 90 del 16 aprile1992
  - Dillier-Zulauf A. (1985). Crioscopia del latte – Situazione delle conoscenze. Sc.Tecn. Lattiero Casearia, 36 (suppl.), 473 – 507
  - Pecorari M., Fieni S., Mariani P. (1985). Osservazioni sull'indice crioscopico del latte di stalla. Sc.Tecn. Lattiero Casearia, 36 (4), 281 – 292
  - Salvatori del Prato. Trattato di tecnologia casearia. Edagricole - Edizioni Agricole, Bologna, 1998
  - Schukken Y.H., Fulton C. D., Leslie K.E. (1992). Freezing point of bulk milk in Ontario.An observational study. J. Food Protect., 55, 995 – 998
  - Shipe W.F. (1959). The freezing point of milk. A review. J. Dairy Sc., 42, 1745 – 1762
  - Slaghuis B.A. (2001). The freezing point of authentic and original farm bulk tank milk in the Netherlands. Int. Dairy Journal, 11, 121 – 126
  - Sotgiu M.R., Piroddi A.M., Cerrone A., Puddu G.F. (1996). Indagine sull'indice crioscopico del latte prodotto nello stabilimento di arborea. Il Latte, 21(5), 86 - 90

<sup>1</sup> **Indirizzo dell'Autore:** Polo Universitario dell'Annunziata, 98168 Messina - tel. 090 3503767 - fax 090 3503942 - indirizzo e-mail : fconte@unime.it

# La produzione del latte nell'asina

ANGELA GABRIELLA D'ALESSANDRO

*Dipartimento PRO.GE.S.A. – Facoltà di Agraria –  
Università degli Studi di Bari*

This paper summarises the new productive role of donkey and recent knowledge on main aspects of ass's milk yield, with particular reference on its essential chemical traits, and physiological and behavioural characteristics of the animals, from studies carried out on Martina Franca breed. The findings underline the influence of lactation stage on milk composition as well as metabolic and behavioural profiles of the asses. Moreover, milk yield depends on daily milking frequency and circadian rhythm. Further studies are necessary in order to improve knowledge on factors affecting variations in milk yield and to settle the management of the animals for this innovative dairy course.

## Introduzione

Parlare di “asino” sembra anacronistico nel XXI secolo, l'era delle missioni spaziali, delle nanotecnologie, delle ricerche sull'infinitamente piccolo ... Parlare di produzione di latte di asina può suscitare in qualche modo ilarità, legati come siamo alle immagini, che ci hanno accompagnato da sempre, di un animale protagonista di miti, di saggi, di favole e di poesie. Per parafrasare il suo ruolo nella storia dell'uomo, mi piace ricordare l'opera narrativa di un grande naturalista e scrittore, Gerrald Durrel, che ci regala una storia ambientata nelle isole greche dove gli asini (asini di kalanero) sono protagonisti della vita di un villaggio, che rendono meno faticosa e triste per gli uomini. Il ruolo degli asini è così significativo che i nemici, per impossessarsi dell'isola rapiscono gli asini, e la vita si ferma.

L'asino, infatti, sin dalla sua addomesticazione, è stato un fedele e discreto alleato dell'uomo nell'affrontare la fatica della vita quotidiana. Veniva impiegato come forza motrice per i lavori nei campi, come mezzo di trasporto di persone e merci, soprattutto nelle condizioni più disagiate dei sentieri di montagna e nei boschi, per l'estrazione dell'acqua dai pozzi e per la molitura del grano, e ha trovato impiego anche per il trasporto di materiale bellico.

Per la sua adattabilità agli ambienti più ostili e rusticità, ancor oggi l'asino trova largo impiego nei Paesi in via di sviluppo dell'Africa e dell'Asia.

Il progresso tecnologico e l'evolversi delle condizioni socio-economiche, negli ultimi decenni ha determinato nelle società industrializzate una drastica contrazione della consistenza numerica di questa specie, che ha portato a lanciare l'allarme del rischio di estinzione per molte razze – popolazioni asinine (Cardellino, 2006).

In Italia, la crescente preoccupazione della possibile ma definitiva perdita di queste inestimabili risorse genetiche ha richiamato l'attenzione del mondo scientifico e di diversi Enti territoriali in ambito regionale, non solo per il mantenimento della specie ma anche per la sua valorizzazione produttiva, come incisivo strumento in grado di assicurare nel tempo la “sopravvivenza” dell'asino. A tal fine va sottolineata comunque la improcrastinabile esigenza di aumento della consistenza delle diverse razze-popolazioni asinine presenti in Italia, attraverso idonei programmi di gestione della riproduzione, presupposto indispensabile per l'utilizzo zootecnico dell'asino.

Negli ultimi anni si stanno rilevando nuove ed innovative possibilità di utilizzo dell'asino (onoterapia, fattorie didattiche, onoturismo, health and beauty farms), che possono contribuire alla valorizzazione della specie.

In termini economici, particolare rilievo assume l'utilizzazione zootecnica dell'asino per la produzione di latte. Per le peculiari caratteristiche di composizione, il latte di asina sta riscuotendo interesse per i possibili impieghi in campo alimentare e nell'industria cosmetica. Come alimento bio-funzionale e nutraceutico trova indicazioni in pediatria (bambini affetti da allergia al latte vaccino; Iacono et al., 1992), e viene ipotizzato il suo impiego nella nutrizione geriatrica (Conte et al., 2003), come ingrediente in diete ipocaloriche o diete ipocolesterolemizzanti (Salimei et al., 2000), nella prevenzione delle malattie cardio-vascolari, autoimmuni e infiammatorie (Chiofalo et al., 2003, 2005).

## La produzione di latte

*Aspetti qualitativi* - Diversi studi hanno evidenziato la stretta analogia del latte di asina a quello di

donna (Salimei et al., 2001; Conte et al., 2003; Salimei e Chiofalo, 2006) e le possibilità di impiego nei lattanti affetti da allergia alle proteine del latte vaccino (APLV; Iacono et al., 1992; Carroccio et al., 2000; Iacono et al., 2006).

Il latte di donna, come negli altri mammiferi, è l'alimento che risponde al meglio alle esigenze nutrizionali del neonato; è un fluido bioattivo che evolve con le esigenze nutrizionali dell'infante, da colostro a latte maturo, e modifica nel corso della lattazione la sua composizione (Wagner et al., 2004).

Nell'asina le variazioni durante la lattazione riguardano sia gli aspetti qualitativi che quantitativi, e la definizione di tali andamenti risulta importante per la caratterizzazione nutrizionale del latte, oltre che per gli aspetti più strettamente concernenti il processo produttivo.

Nell'ambito delle caratteristiche qualitative, le frazioni proteiche del latte assumono particolare rilievo nutrizionale, per la potenziale allergenicità in campo alimentare (Muraro et al., 2002) e per il significato biologico. La componente proteica del latte di asina risulta molto simile al latte di donna (Roncada e Greppi, 2001), in particolare per il ridotto contenuto in caseina e -lattoglobulina, ad elevato potere allergenico (Carroccio et al., 1999), e per l'elevata concentrazione di lisozima (Salimei, 1999; Fantuz et al., 2001; Polidori et al., 2006). Sia nella donna (Wagner et al., 2004) che nell'asina (Alabiso et al., 2005; Salimei et al., 2004, 2005, 2006) è riportato un andamento decrescente del titolo proteico nel corso della lattazione. Controversa appare la variazione delle frazioni proteiche con l'avanzare della lattazione (Salimei et al., 2004; Alabiso et al., 2005). Per le sieroproteine, in particolare, un nostro studio condotto in asine Martina Franca nei primi due mesi di lattazione (Di Luccia et al., 2005), periodo in cui il puledro manifesta un elevato tasso di accrescimento, è stato riscontrato il valore massimo al 45° giorno di lattazione, presumibilmente legato ad un aumento delle immunoglobuline.

Anche per quanto attiene al contenuto lipidico, sebbene il suo tenore sia inferiore a quello di altre specie (Conte et al., 2003), il latte di asina, per la sua composizione acidica, riscuote notevole interesse per i diversi impieghi nutrizionali e nutraceutici ipotizzati (sviluppo del sistema immunitario del neonato, prevenzione di malattie cardiovascolari, autoimmuni e infiammatorie) (Chiofalo et al., 2003, 2005), comune da verificare.

Una elevata stabilità delle diverse classi degli acidi grassi, ad eccezione dei polinsaturi omega-6, è stata riscontrata nel corso della lattazione nella razza Ragu-sana (Chiofalo et al., 2005). Un nostro studio (Martemucci et al., 2006), condotto su asine Martina Franca, ha invece evidenziato marcate variazioni in rapporto allo stadio di lattazione per gli acidi grassi saturi e insaturi, e per gli acidi grassi essenziali (linoleico e linolenico). Gli indici di qualità (indice aterogenico e trombogenico) sono risultati più favorevoli negli ultimi mesi di lattazione (6° e 7° mese), presumibilmente per la particolare disponibilità alimentare del periodo stagionale, rimarcando così l'importanza dell'alimentazione sulla composizione chimico-nutrizionale del latte.

La ridotta carica microbica da noi riscontrata nel latte di asine Martina Franca sottoposte a mungitura meccanica, così come evidenziato in altre ricerche (Salimei e Chiofalo, 2006), unitamente alla limitata presenza di enterobatteri e coliformi (Sorrentino et al., 2005), sottolinea la buona qualità del prodotto sotto il profilo igienico-sanitario, in linea con la normativa vigente (EC Reg. 853/2004).

*Aspetti quantitativi* - Nostri studi sull'asina di Martina Franca (in corso di pubblicazione) indicano un picco di produzione fra 40 e 60 giorni dopo il parto e una elevata persistenza della lattazione. Ricerche condotte su altre razze (Alabiso et al., 2005; Salimei et al., 2005) evidenziano un costante decremento della produzione di latte dal trentesimo giorno post-partum sino al quarto-quinto mese. L'elevata variabilità individuale da noi riscontrata nella produzione di latte e osservata anche in altri studi (Salimei et al., 2005; Alabiso et al., 2006), sottolinea la mancanza della selezione genetica per il carattere produttivo, nelle diverse razze-popolazioni asinine. Peraltro, la stagione sembra influenzare la produzione media giornaliera (Alabiso et al., 2005), ascrivibile alla disponibilità alimentare.

Le potenzialità produttive in latte dell'asina risultano comunque poco definite in rapporto ai meccanismi fisiologici di secrezione e di eiezione del latte, legati ad un ritmo circadiano e alla capacità di stoccaggio del secreto nella cisterna del latte, che possono condizionare in termini applicativi l'ora di mungitura, la frequenza e il numero delle mungiture. Resta altresì da validare ed ottimizzare l'impiego della mungitura meccanica nelle asine.

Nostri studi hanno evidenziato che sussiste un ritmo circadiano nella secrezione del latte. La produ-

zione più elevata per munta corrisponde alla mungitura pomeridiana, mentre, per quanto attiene alle mungiture, la frequenza più idonea risulta essere di 5 ore (D'Alessandro e Martemucci, 2006). Questo intervallo, per due mungiture al giorno è stato adottato, su base empirica, per i controlli funzionali delle produzioni asinine in Italia (Ranghino, 2006). In un nostro studio preliminare, la separazione del redo dalla madre per otto ore, ai fini della mungitura, ha consentito un ulteriore aumento del 60% della produzione di latte rispetto alla frequenza di mungitura di 5 ore. Tuttavia, è doveroso sottolineare che non sono stati ancora validati, in maniera scientifica, gli effetti delle diverse frequenze di mungitura (5 ore così come la più favorevole di 8 ore) sulla sanità della mammella e sul benessere dell'asina e/o del puledro. Nostri studi in corso, ci auguriamo possano contribuire a chiarire tali aspetti, ai fini della definizione di una corretta ed ottimale tecnica di allevamento dell'asina per il nuovo indirizzo di produzione latte.

#### **Orientamento per l'allevamento dell'asina ai fini produttivi**

Nello scenario dell'attuale vasta disponibilità di alimenti commerciali, il latte di asina può trovare un'adeguata collocazione soltanto se si caratterizza come "alimento naturale", ovvero se deriva da un processo produttivo che non alteri i meccanismi fisiologici dell'animale, e nel contempo sia in grado di garantire le sue peculiari caratteristiche nutrizionali. Base del sistema produttivo, quindi, dovrebbe essere il rispetto del benessere degli animali, nelle sue componenti etologiche e fisiologiche.

*Aspetti etologici* - La conoscenza dell'etogramma costituisce un indice di stima dello stato di benessere e può essere un valido supporto per la definizione del sistema di allevamento e del management. Particolare attenzione meritano i comportamenti di mantenimento fondamentali, più strettamente legati ai bisogni superiori e dell'omeostasi emozionale, al fine di pervenire alla più corretta gestione degli animali. Limitate risultano le conoscenze relative all'Asino; la gran parte dei dati scientifici disponibili in letteratura riguardano l'Asino selvatico.

Gli studi etologici condotti sull'asina di Martina Franca hanno riguardato il peri-parto e la lattazione (D'Alessandro et al., 2005, 2006a). L'ultimo stadio della gravidanza nelle asine non modifica sostanzialmente l'espressione dei comportamenti fondamentali (alimentazione, abbeverata, posizione eretta, locomo-

zione e riposo). Sussiste una marcata prevalenza dell'attività alimentare durante le ore pomeridiane rispetto al mattino, dimostrando un comportamento di tipo crepuscolare per questa attività. Nella prima settimana post-partum, le asine mantengono il comportamento crepuscolare con un maggior riposo durante la mattina. Nel rapporto madre-figlio predomina l'attività di gioco con il puledro e il grooming. Nell'Asino Pantesco, l'etogramma notturno neonatale e materno nella prima settimana dal parto (Malara et al., 2006), ha evidenziato la dipendenza temporale di alcune fasi dell'attività di sonno. Nella fattrice è emerso il mantenimento dello stato di vigilanza sul puledro, con assenza della postura in decubito laterale completo, indice di sonno REM. Assenza del riposo è stata altresì osservata in asine selvatiche allattanti (Canaco e Avornyo, 1998).

Per quanto attiene al comportamento alimentare del puledro nella prima settimana di vita, utile per la valutazione delle esigenze primarie del puledro, risulta che la frequenza delle poppate mediamente è di 32 minuti al mattino e di 41 minuti nel pomeriggio (D'Alessandro et al., 2005). Rispetto al cavallo, il puledro asinino dedica minor tempo all'attività di suzione ed evidenzia una maggiore efficienza motoria e grado di autonomia (Innella et al., 2005).

Gli studi sull'Asino di Martina Franca (D'Alessandro et al., 2006a) indicano che il profilo comportamentale delle asine risulta marcatamente influenzato dallo stadio di lattazione. L'attività di locomozione delle asine, legata alla necessità di sorvegliare il puledro, è più intensa sino al secondo mese dal parto, mentre è al terzo mese che sono più evidenti le vocalizzazioni di raglio, utilizzato come richiamo per il puledro diventato più autonomo. E' stata anche evidenziata una maggiore attività di gioco con i puledri (D'Alessandro et al., 2006a), ritenuta importante per lo sviluppo sociale e fisico dei giovani animali (Christensen et al., 2002).

L'analisi comportamentale nel peri-parto e durante la lattazione confermerebbe quanto ritenuto da Malara et al. (2006) circa il carattere di selvaticità di alcuni aspetti etologici degli asini, e la loro maggiore somiglianza agli equidi selvatici più che al cavallo domestico.

Quindi, la gestione degli animali e la organizzazione degli spazi in allevamento ai fini produttivi dovrebbe tenere in debita considerazione le caratteristiche etologiche della specie, non modulabili su schemi validi in altre specie. Non si dovrebbe

prescindere dal mantenimento del naturale rapporto madre-figlio, evitando situazioni di allontanamento del puledro e di isolamento sociale che potrebbero incidere sul benessere del puledro e dell'asina, con ripercussioni sui suoi aspetti produttivi.

*Aspetti fisiologici* - Negli animali da reddito la conoscenza del profilo metabolico rappresenta un valido strumento per il miglioramento della performance produttiva attraverso la valutazione dello stato di benessere, consentendo così l'adeguamento del management aziendale alle esigenze fisiologiche dell'animale. E' ben noto che i parametri ematochimici variano in rapporto a numerosi fattori quali la razza, l'età, il sesso e lo stato fisiologico degli animali (Zinkl et al., 1990; Cubeddu et al., 1991; Jordana et al., 1998; Mori et al., 2003).

Nelle diverse razze asinine italiane, gli studi relativi ai parametri ematochimici, sebbene incompleti, stanno fornendo un valido contributo alla conoscenza degli aspetti fisiologici dei nostri animali, con la definizione dei range dei valori di riferimento, utili per la valutazione clinica dello stato metabolico.

Risultati recenti hanno evidenziato una marcata influenza dell'età sui parametri ematologici ed ematochimici, mentre appare controversa l'influenza del sesso, verificata nell'asino Amiantino ma non nel Ragusano (Orlandi et al., 1997; Caldin et al., 2005; Fazio et al., 2006).

Lo studio condotto sulle asine Martina Franca (D'Alessandro et al., 2006b) ha evidenziato l'influenza dello stato fisiologico della lattazione su alcuni metaboliti (colesterolo, proteine totali, urea e GPT) nonché le variazioni nel corso della lattazione del metabolismo proteico, del profilo epatico e della concentrazione dei minerali.

E' stata altresì messa in evidenza la notevole capacità di adattamento alle alte temperature estive delle asine che, contrariamente a quanto si verifica per altre specie, non riducono i livelli di ingestione alimentare né aumentano la frequenza delle abbeverate in risposta al caldo (D'Alessandro et al., 2006a).

### Conclusioni

La variabilità della composizione chimico-nutrizionale e della produzione del latte impone l'approfondimento delle conoscenze sui diversi fattori di influenza, genetici ed ambientali in senso lato, ai fini della standardizzazione qualitativa del prodotto e dell'intero processo produttivo.

L'ampliamento degli studi sulla fisiologia della lat-

tazione e sulla modalità di estrazione del latte, sul profilo metabolico, sugli schemi comportamentali, senza trascurare gli aspetti di natura alimentare, potranno contribuire alla definizione di una corretta tecnica di allevamento per il nuovo indirizzo produttivo dell'asino.

Per l'utilizzo zootecnico dell'asina, va sottolineata l'esigenza dell'aumento della consistenza numerica delle diverse razze italiane, attraverso adeguati programmi di gestione dell'attività riproduttiva.

Rimangono aperte alcune problematiche che riguardano la filiera produttiva, tra cui la conservazione del latte e le normative per l'utilizzo alimentare e la commercializzazione del prodotto.

La ridotta carica microbica del latte alla mungitura e l'elevato contenuto in lisozima rendono il latte di asina un prodotto con elevata shelf-life (Sorrentino et al., 2005). Comunque, l'individuazione di idonei e specifici sistemi di conservazione del latte, oltre a tutelare la salute del consumatore, apporterebbe notevoli vantaggi ai fini della commercializzazione. L'aumento della shelf-life del latte potrebbe consentire una costante disponibilità commerciale del latte, superando la stagionalità dell'offerta legata all'epoca dei parti e quindi della lattazione.

Il problema della commercializzazione del latte di asina rimane irrisolto e si sottolinea la mancanza di una normativa che regolamenti tutta la filiera, dalla produzione, al confezionamento, alla vendita del prodotto. Il DPR n. 54/97 che regola l'immissione sul mercato del latte non prevede il latte di asina; la normativa attuale di riferimento, pertanto, è rappresentata dal R.D. 1929, secondo cui la commercializzazione del latte è possibile esclusivamente presso il produttore, come latte crudo.

---

*Lavoro svolto nell'ambito  
dell' INTERREG IIIA Grecia-Italia  
Codice Progetto I2101030 – Pubblicazione N. 1.*

---

### Bibliografia

- Alabiso M., Giosuè C., Alicata M.L., Mazza F., Iannolino G., Pellerito M., Schirò A. (2006). Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 55-59.
- Alabiso M., Russo G., Giosuè C., Alicata M.L., Torrisi C. (2005). Atti 7° Conv. "Nuove acquisizioni in materia di ipopologia", Lodi, 22-23 giugno, 152-158.
- Caldin M., Furlanello T., Solano-Gallego L., De Lorenzi D., Carli E., Tasca S., Lubas G. (2005). *Comp. Cli. Path*, 14, 5-12.
- Canacoo E.A., Avornyo F.K. (1998). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 80, 229-234.

- Cardellino R.A. (2006). Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 17-19.
- Carroccio A., Cavataio F., Iacono G. (1999). Clin. Exp. Allergy, 29, 1014-1016.
- Carroccio A., Cavataio F., Montalto G., D'Amico D., Alabrese L., Iacono G. (2000). Clin. Exp. All., 30, 1597-1603.
- Chiofalo B., Salimei E., Chiofalo L. (2003). Large Animal Review, 9 (5), 1-6.
- Chiofalo B., Azzara V., Piccolo D., Lotta L., Chiofalo L. (2005). Large Animal Review, 11 (1), 39-44.
- Christensen J.M., Ladewig J., Sondergaard E., Malmkvist J. (2002). Appl. Anim. Behav. Sci. 74(3), 233-248.
- Conte F., Calabrò A., Monsù G. (2003). Il Progresso Veterinario, LVIII (2).
- Cubeddu G.M., Bini P.P., Floris B., Carangiu V., Bomboi G., Pintori G. (1991). Boll. Soc. It. Biol. Sper., 67, 577-584.
- D'Alessandro A.G., Casamassima D., Simone N., Colella G.E., Martemucci G. (2005) – Behavioural aspects in ass during the end of pregnancy and ass and their foal during the first week post-partum in Martina Franca breed. Ital. J. Anim. Sci. vol. 4 (Suppl.2), 439.
- D'Alessandro A.G., Martemucci G. (2006) – Produzione di latte in asine di razza Martina Franca in rapporto a differenti tempi di separazione del puledro dalla madre e orari di mungitura. Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 137-138.
- D'Alessandro A.G., Martemucci G., Casamassima D. (2006a). App. Anim. Behav. Sci. (in press).
- D'Alessandro A.G., Martemucci G., Palazzo M., Simone N., Colella G.E., Pizzo R., Casamassima D. (2006b). Proc. 3rd European Workshop on Equine Nutrition, Campobasso, 20-22 June.
- Di Luccia A., D'Alessandro A.G., Faccia M., Negro D., Simone N., Martemucci G. (2005). Ital. J. Anim. Sci., (4 Suppl. 2), 444.
- Fantuz F., Vincenzetti S., Polidori P., Vita A., Polidori F., Salimei E. (2001). Proc. XIV Congr. A.S.P.A., Firenze, 12-15 June, 635-637.
- Fazio F., Assenza A., Giannetto C., Maltese I., Piccione G., Caola G. (2006). Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 50-54.
- Iacono G., Carroccio A., Cavataio F., Montalto G., Soresi M., Balsamo V. (1992). J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 14 (2), 177-181.
- Iacono G., Scalici C., Iannolino G., D'Amico D., D'Amico A., Di Prima L., Pirrone G., Ambrosiano G., Carroccio A. (2006). Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 108-110.
- Innella G., Luigiano D., Di Rosa A., Panzera M. (2005). Atti VI Conv. Naz. So.Fi.Vet., 81-83.
- Jordana J., Folch P., Cuenca R. (1998). Res. Vet. Sci., 64, 7-10.
- Malara L., Luigiano G., Arcigli A., Innella G., Di Rosa A., Panzera M. (2006). Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 67-70.
- Martemucci G., D'Alessandro A.G., Summo C., Caponio F. (2006). Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 139.
- Mori E., Fernandes W.R., Mirandola R.M.S., Kubo G., Ferreria R.R., Oliveira J.V., Gacek F. (2003). J. Equine Vet. Sci., 23 (8), 358-364.
- Muraro A.A., Giampietro P.G., Galli E. (2002). Ann. Allergy Asthma Immunol., 89 (Suppl.), 97-101.
- Orlandi M., Curadi M.C., Leotta R. (1997). Annali Fac. Med. Vet. Pisa, 50, 47-53.
- Polidori P., Vincenzetti S., Crescione A., Bordonaro S., Guastella A.M. (2006). Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 100-104.
- Ranghino L. (2006). Atti 2° Convegno sull'Asino, Palermo, 21-24 settembre, 20-23.
- Roncada P., Greppi G.F. (2001). Atti LV Congr. Naz. S.I.S.Vet., Rimini, 29-30.
- Salimei E. (1999). Atti 1° Conv. SIDI. Campobasso, 26 marzo, 20-30.
- Salimei E., Belli Blanes R., Marano A., Varisco G. (2000). Il Chirone, 26, 19-22.
- Salimei E., Belli Blanes R., Marano A., Varisco G. (2001). Il Chirone, 27, 9-13.
- Salimei E., Chiofalo B. (2006). Proc. 3<sup>rd</sup> EWEN, Campobasso, 20-24 giugno, 117-131.
- Salimei E., Fantuz F., Coppola R., Chiofalo B., Polidori P., Varisco G. (2004). Anim. Res., 53, 67-78.
- Salimei E., Rosi F., Maglieri C., Polidori M., Fantuz F., Varisco G. (2005). Atti 7° Conv. "Nuove acquisizioni in materia di ippologia", Lodi, 22-23 giugno, 160-165.
- Salimei E., Rosi F., Maglieri C., Polidori M., Soggi R., Chiofalo B., Gambacorta M., Varisco G. (2006). Proc 3<sup>rd</sup> EWEN, Campobasso, 20-24 giugno.
- Sorrentino E., Salimei E., Succi M., Gammariello D., Di Criscio T., Panfili G., Coppola R. (2005). Proc. Congr. On Technological innovation and enhancement of marginal products, Foggia, 6-8 april, 6.
- Wagner C.L., Graham E.M., Hope W.W. (2004) - <http://www.emedicine.com/ped/topic2594.htm>
- Zinkl J.G., Mae D., Merida P.G., Farver T.B., Humble J.A. (1990). Am. J. Vet. Res., 51, 408-413.

# Indagine preliminare sulla eterogeneità della frazione proteica del latte d'asina prodotto in Sicilia

DONATA MARLETTA, ANDREA CRISCIONE,  
ANTONIO ZUCCARO,  
SALVATORE BORDONARO,  
ANNA MARIA GUASTELLA,  
GIUSEPPE D'URSO

*DACPA: sezione di Scienze delle Produzioni Animali,  
Università di Catania.*

VINCENZO CUNSOLO, VERA MUCCILLI,  
ROSARIA SALETTI, SALVATORE FOTI

*Dipartimento di Scienze Chimiche,  
Università di Catania.*

PROF.SSA DONATA MARLETTA

*DACPA,*

*Sezione di Scienze delle Produzioni Animali,  
Università di Catania.*

*Via Valdisavoia 5, 95123 Catania.*

*Tel. 095234478 - Fax: 095234345*

*Email: d.marletta@unict.it*

## Introduzione

La Sicilia è la prima regione italiana per capi asinini allevati. Negli ultimi anni il numero di allevamenti specializzati nella produzione di latte di asina è sensibilmente cresciuto e il consumo di tale latte ha assunto una notevole importanza. Il latte degli Equidi possiede eccellenti caratteristiche nutrizionali, gradevole al gusto, facilmente digeribile, presenta una frazione proteica peculiare, caratterizzata da un basso rapporto tra caseine e sieroproteine (Zicker e Lonnerdal, 1994; Miranda et al., 2004). Il latte di asina presenta una composizione chimica molto simile a quella del latte umano e garantisce curve di crescita sovrapponibili a quelle ottenute con latti-formula (Iannolino et al., 2005), pertanto rappresenta una valida alternativa naturale nella nutrizione dei neonati. Questo alimento ipoallergenico è spesso ben tollerato da pazienti, neonati o adulti, affetti da intolleranza alle proteine del latte vaccino (Iacono et al., 1992; Businco et al., 2000). Il meccanismo di tale tolleranza resta, tuttora, da chiarire, ma è certamente legato alla peculiare composizione chimica della frazione proteica, ancora poco studiata. Con l'obiettivo di fornire un contributo in

tale ambito è stata condotta un'indagine preliminare sulla frazione proteica del latte di asina prodotto in Sicilia, mediante analisi proteomica.

## Materiale e metodi

Campioni individuali di latte sono stati prelevati da 56 asine allevate in tre allevamenti specializzati in Sicilia. I campioni sono stati mantenuti in borsa frigorifero e trasportati in laboratorio sono stati sgrassati per centrifugazione a 3500 rpm, a 15°C, per 30 min; lo strato di grasso solidificato per raffreddamento a -20°C è stato eliminato. Dal campione di latte scremato è stata ottenuta la frazione caseinica per precipitazione isoelettrica (pH 4.6) a 22 °C, utilizzando 1 mol·L<sup>-1</sup> HCl. Il supernatante, contenente le proteine del siero, è stato raccolto dopo centrifugazione a 4500 rpm a temperatura ambiente per 30 min, infine conservato a -20°C. Il precipitato è stato lavato due volte con acqua distillata a pH 4.6, solubilizzato a pH 7 con 1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH, la frazione caseinica è stata precipitata nuovamente a pH 4.6 con 1 mol·L<sup>-1</sup> HCl e lavata tre volte con acqua distillata, infine è stata solubilizzata a pH 7, liofilizzata e conservata a -20 °C (Ochirkhuyag et al., 2000).

L'isoelettrofocalizzazione (IEF) in gel ultrasottili di poliacrilammide con anfoliti trasportatori è stata eseguita sul sistema Multiphor II Flatbed Electrophoresis (Amersham Biosciences); i gel sono stati colorati con blu Coomassie R350. L'SDS-PAGE è stato eseguito in un apparato elettroforetico verticale standard (Protean<sup>®</sup> II xi Cell -BioRad) utilizzando gel di poliacrilammide al 14% che sono stati colorati con blu Coomassie R250 (Grosclaude et al., 1987). Dai gel di IEF del campione di riferimento (pattern A), singole bande sono state escisse, lavate, ridotte in-gel con DTT, sottoposte ad alchilazione delle cisteine libere con iodoacetammide e digerite in-gel con tripsina porcina, in accordo con Shevchenko et al. (1996).

Una aliquota dei peptidi triptici è stata successivamente micro-purificata su una nano colonna (Gobom et al., 1999). Per la successiva analisi mediante spettrometria di massa (MALDI-MS) i peptidi sono stati eluiti con 0.6 µL di una soluzione di matrice (10 mg/mL acido -ciano-4-idrossicinnamico in 70% [v/v] CH<sub>3</sub>CN e 0.1% [w/v] di acido trifluoroacetico) e depositati diretta-

mente sulla piastrina MALDI. Gli spettri di massa MALDI sono stati acquisiti in modalità positiva “ion reflectron-delayed extraction”, usando uno spettrometro di massa Voyager DE-PRO TOF (Applied Biosystems) equipaggiato con un laser UV ad azoto (337 nm). Il software *m/z* (Proteometrics, NY) è stato usato per analizzare gli spettri di massa. Gli spettri MALDI-TOF sono stati calibrati usando una miscela triptica di  $\beta$ -lattoglobulina bovina come standard esterno. I dati di massa MALDI-TOF sono stati utilizzati per identificare le proteine mediante una ricerca in database di sequenze proteiche non ridondanti mediante il server Mascot (<http://www.matrixscience.com>).

### Risultati e discussione

I campioni di latte di asina hanno presentato una marcata eterogeneità e hanno evidenziato cinque differenti pattern isoelettroforetici. La maggior parte dei campioni di latte (36 – 64.3%) hanno mostrato un pattern comune, chiamato A (Fig. 1) ed utilizzato come riferimento, mentre altri campioni sono stati caratterizzati dalla presenza/assenza di alcune bande proteiche. Le corse IEF dei campioni di latte, e delle frazioni delle caseine e delle siero proteine di campioni selezionati (Fig 1a), hanno permesso di identificare a quale di queste frazioni proteiche le bande appartenessero. I pattern B (1 – 1.8%) e C (12 – 21.4%) si sono rivelati difettivi, essendo privi di alcune bande nella frazione caseinica e sierica, rispettivamente (Fig. 1a). I pattern D (5 – 8.9%) ed E (2 – 3.6%), al contrario, hanno mostrato la presenza di

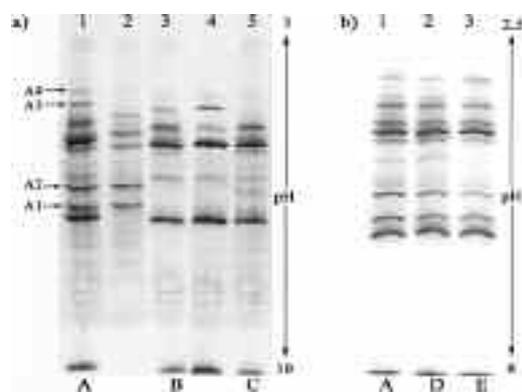
bande aggiuntive appartenenti alla frazione delle caseine e delle siero proteine rispettivamente (Fig. 1b).

L'SDS-PAGE ha confermato quanto precedentemente ottenuto da Salimei et al. (2004) ed ha inoltre rivelato una marcata ridotta quantità della frazione caseinica del campione di latte difettivo (IEF pattern B) confrontato con il campione di riferimento (Fig. 2).

Tre campioni di latte, quello di riferimento (pattern A) e quelli difettivi (pattern B e C) sono stati completamente caratterizzati mediante spettrometria di massa. Gli spettri di massa MALDI delle bande A1 e A2 digerite in-gel ed estratte dal campione di riferimento (pattern A) e assenti nel campione di latte con pattern IEF B, sono mostrate nella figura 3 (a – b).

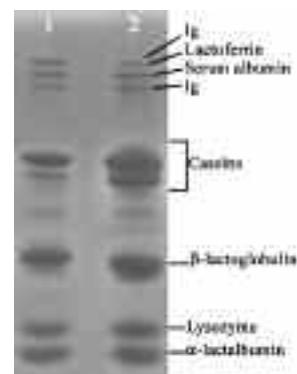
I segnali presenti negli spettri di massa MALDI sono quasi del tutto uguali e corrispondono ai peptidi triptici teorici di due varianti della caseina  $\alpha_{s1}$  di cavallo (Tabella 1) presenti nel database (Acc. N. gi19031195 e gi15723738). Grazie alla buona omologia (pari a circa il 30%), le due bande isoelettroforetiche A1 e A2 potrebbero essere attribuite ad una “ipotetica”, ancora non caratterizzata, variante della caseina  $\alpha_{s1}$  di asino. Gli spettri di massa MALDI dei digeriti triptici delle bande A3 e A4 digerite in-gel, e assenti nel pattern C, hanno permesso di identificare due varianti della  $\beta$ -lattoglobulina di asino. In dettaglio i segnali presenti negli spettri MALDI delle bande A3 (Figura 4a) corrispondono ai peptidi triptici di una teorica variante B di  $\beta$ -lattoglobulina II asinina, mentre i picchi presenti nello spettro MALDI-MS delle bande A4 (Figura 4b) corrispon-

Figura 1  
Isoelettrofocusing di latte di asina sgrassato e delle sue frazioni proteiche



- a) 1: Campione di latte di riferimento, Pattern A; 2: Frazione caseinica del campione di riferimento; 3: Pattern B; 4: Frazione delle sieroproteine del campione di riferimento; 5: Pattern C.  
b) 1: Campione di latte di riferimento, Pattern A; 2: Pattern D; 3: Pattern E.

Figura 2  
SDS-PAGE di latte di asina scremato



- 1: Campione di latte difettivo, Pattern B; 2: Campione di latte di riferimento, Pattern A.

dono ai peptidi triptici di una ipotetica variante C di b-lattoglobulina II asinina (Tabella 2). Questo risultato porta a concludere che le due bande isoelettroforetiche A3 e A4 potrebbero essere attribuite alle varianti B e C rispettivamente di  $\beta$ -lattoglobulina II.

### Conclusioni

L'approccio metodologico qui riportato, che abbina l'analisi isoelettroforetica con l'analisi mediante spettrometria di massa MALDI-MS, risulta evidentemente molto efficace nell'identificare la variabilità delle principali frazioni proteiche nel latte di asina a livello fenotipico. Ulteriori indagini sono necessarie a livello molecolare per confermare l'esistenza di un polimorfismo genetico ai loci delle proteine del latte di asina. Ciascuno tipo di latte caratterizzato da un peculiare pattern di proteine dovrebbe essere impiegato in *test*

immunologici condotti sia *in vitro* che *in vivo* al fine di determinarne il potere allergenico. L'esistenza del polimorfismo, osservato in entrambe le frazioni proteiche (caseina e sieroproteine) potrebbe essere utile ad una migliore valorizzazione dell'allevamento dell'asino ed in particolare a promuovere il consumo di latte di asina in dietoterapia.

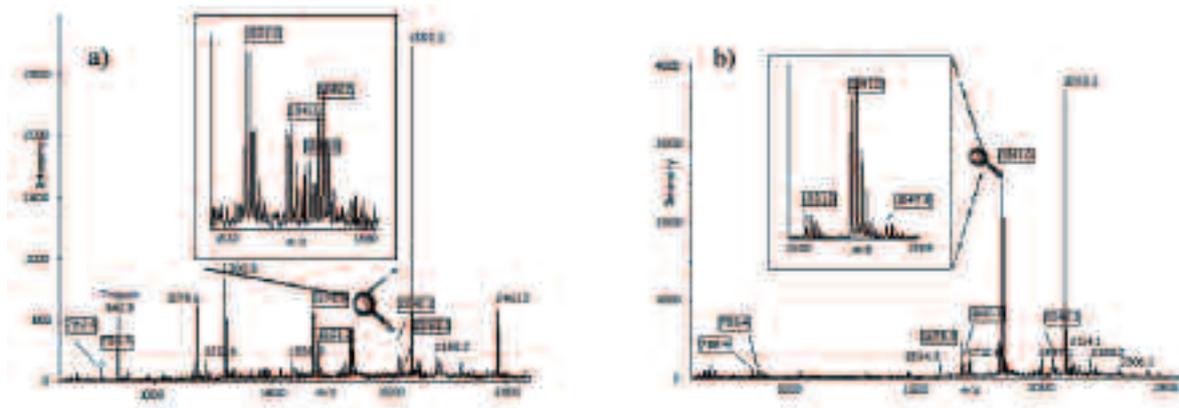
*La ricerca è stata finanziata da*

*"Convenz. con ISZS - del. CdA del ISZS n° 31/05".*

### Bibliografia

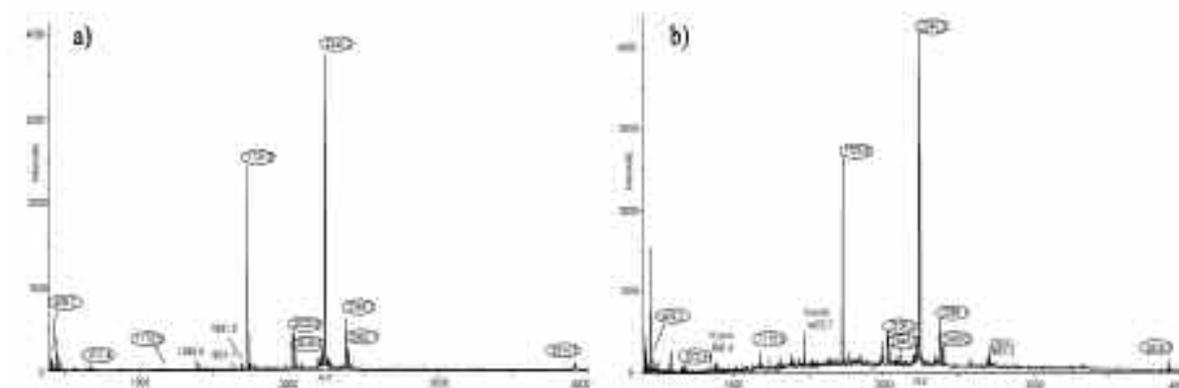
- Businco L., Giampietro P.G., Lucenti P., Lucaroni F., Pini C., Di Felice G., Iacovacci P., Curadi C., Orlandi M., 2000. Allergenicity of mare's milk in children with cow's milk allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 105:1031-1034.
- Gobom J., Nordhoff E., Mirgorodskaya E., Ekman R., Roepstorff P., 1999. Sample purification and preparation technique based on nano-scale reversed-phase columns for the sensitive analysis of complex peptide mixtures by ma-

Figura 3  
Spettri di massa MALDI delle bande A1 (a) e A2 (b) da digeriti triptici in-gel.



I picchi cerchiati corrispondono ai peptidi triptici di una teorica caseina  $\alpha_{s1}$  di cavallo.

Figura 4  
Spettri MALDI-MS delle bande A3 (a) e A4 (b) digerite in gel con tripsina.



I picchi cerchiati corrispondono ai peptidi triptici delle varianti di  $\beta$ -lattoglobulina.

- trix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 34:105-116.
- Grosclaude F., Mahé M.F., Brignol G., Di Stasio L., Jeunet R., 1987. A Mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat s1-casein. *Genet. Sel. Evol.* 19: 399-412.
  - Herrouin M., Mollé, D., Fauquant J., Ballestra F., Maubois J.L., Léonil J. 2000. New genetic variants identified in donkey's milk whey proteins. *J. Prot. Chem.* 19:105-115.
  - Iacono G., Carroccio A., Cavataio F., Montalto G., Soresi M., Balsamo V., 1992. Use of ass's milk in multiple food allergy. *J. Ped. Gastroenterol. Nutr.*, 14: 177-181.
  - Iannolino G., Iacono G., Carroccio A., Scalici C., Russo G., Pellerito M., Schirò A., 2005. Utilizzo diretto del latte d'asina nelle allergie alimentari. Atti 1° Convegno-Raduno Nazionale sull'Asino. Grosseto 28-29 maggio.
  - Miranda G., Mahé M.F., Leroux C., Martin P., 2004. Proteomic tools to characterize the protein fraction of Equidae milk. *Proteomics* 4:2496-2509.
  - Ochirkhuyag B., Chobert J.M., Dalgalarondo M., Haertlé T., 2000. Characterization of mare caseins. Identification of s1- and s2-caseins. *Lait* 80: 223-235.
  - Salimei E., Fantuz F., Coppola R., Chiofalo B., Polidori P., Varisco G., 2004. Composition and characteristics of ass's milk. *Anim. Res.* 53: 67-78.
  - Shevchenko A., Wilm M., Vorm O., Mann M., 1996. Mass spectrometric sequencing of proteins silver-stained polyacrylamide gels. *Anal. Chem.* 68:850-858.
  - Zicker S.C., Lonnerdal B., 1994. Protein and nitrogen composition of equine (*Equus caballus*) milk during early lactation. *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol.* 108:411-421.

Tabella 1

**Sequenza, posizione, massa monoisotopica calcolata MH+ e misurata sperimentalmente MH+ dei frammenti triptici di una caseina  $\alpha_{s1}$  di cavallo**

<i>Frammento</i>	<i>Posizione</i>	<i>MH+ Calcolata</i>	<i>MH+ Misurata MALDI-MS</i>	<i>Sequenza della caseina <math>\alpha_{s1}</math> del cavallo (Acc. N gil19031195)*</i>
T1	1-3	400.3	-	RPK
T2	4-7	522.3	-	LPHR
T3	8-19	1456.7	-	QPEHIQNEQDSR
T4	20-21	276.2	-	EK
T5	22-24	359.3	-	VLK
T6	25-26	304.2	-	ER
T7	27-27	147.1	-	K
T8	28-41	1712.8	1712.9	FPSFALEYINELNR
T(7+8)	27-41	1840.9	1841.0	
T9	42-43	303.2	-	QR
T10	44-47	502.3	-	ELLK
T(9+10)	42-47	786.5	786.4	
T11	48-49	276.2	-	EK
T12	50-51	275.2	-	QK
T13	52-55	528.2	-	DEHK
T14	56-84	3282.5	-	EYLIEDPEQQESSSTSSEEVVPINTEQK
T15	85-85	175.1	-	R
T16	86-88	385.3	-	IPR
T17	89-101	1675.8	1675.9	EDMLYQHTLEQLR
T(16+17)	86-101	2042.0	2042.1	
T18	102-102	175.1	-	R
T(17+18)	89-102	1831.9	1832.0	
T19	103-105	347.2	-	LSK
T20	106-122	2066.1	-	YNQLQLQAIHAQEQLIR
T21	123-124	278.1	-	MK
T22	125-129	633.3	-	ENSQR
T23	130-133	531.3	-	KPMR
T24	134-181	5734.7	-	VVNQEQAIFYLEPFQPSYQLDVYPYAAWFHPAQIMQHVAYS PFHDTAK
T25	182-190	990.5	-	LIASENSEK
T26	191-197	873.4	-	TDIPEW
T(26+27)	182-197	1844.9	1845.0	

I picchi identificati sono comuni alla sequenza della caseina  $\alpha_{s1}$  di cavallo (Acc. N gil15723738).

Tabella 2

**Sequenza, posizione, massa monoisotopica calcolata MH+ e misurata sperimentalmente MH+ dei frammenti triptici della variante B della b-lattoglobulina II di asino.**

<i>Frammento</i>	<i>Posizione</i>	<i>MH+ Calcolata</i>	<i>MH+ Misurata MALDI-MS</i>	<i>Sequenza della <math>\beta</math>-lattoglobulina II B di asino</i>
T1	1-18	2030.0	2030.0	TDIPQTMQDLDLQEVAQR
T2	19-40	2384.2	2384.1	WHSVAMVASDISLLDSESAPLR
T3	41-59	2240.2	2240.2	VYVEELRPTPEGNLEILR
T4	60-69	1170.5	1170.5	EGANHVCVER
T5	70-75	672.4	672.4	NIVAQK
T6	76-90	1725.8	1725.9	TEDPAVFTVNYQGER
T7	91-91	147.1	-	K
T8	92-125	3914.8	3914.7	ISVLDTDYAHYMFFCVGPPLPSAEHGTVCQYLAR
T8*	92-125	3928.8	3928.7	ISVLETDYAHYMFFCVGPPLPSAEHGTVCQYLAR
T9	126-128	376.2	-	TQK
T10	129-136	978.4	-	VDEEVMEK
T11	137-139	409.2	409.2	FSR
T12	140-160	2240.2	2240.2	ALQPLPGHVQIIQDPSGGQER
T13	161-163	383.1	-	CGF

\* Frammento triptico caratteristico della variante C della  $\beta$ -lattoglobulina II che differisce per la sostituzione amminoacidica D->E (in *corsivo*) rispetto al corrispondente frammento triptico della variante B.

# Allattamento materno e latte d'asina

R. AGOSTINO, F. PALMESI

*Dipartimento della Salute della donna  
e del bambino*

*UOC di Pediatria, Neonatologia e*

*Terapia Intensiva Neonatale*

*Ospedale S. Giovanni Calibita, Fatebenefratelli*

*Isola Tiberina, Roma*

L'allattamento materno è il processo con il quale una donna nutre il proprio bambino dalla nascita fino alla fine del primo anno di vita (a volte anche oltre) ed è la naturale prosecuzione del rapporto madre-figlio iniziato durante la gravidanza. Quando il neonato viene soddisfatto nel suo bisogno di "cibo", le sensazioni gratificanti che egli ne trae si traducono in uno stato di benessere sia fisico che psichico. È questo, dunque, un momento di comunicazione, di conoscenza e di reciproco scambio con la madre, importante anche per il successivo sviluppo psicologico del bambino e per la sua graduale apertura verso il mondo.

Il latte materno rappresenta il nutrimento fisiologico ideale nei i primi mesi di vita e viene definito "specie-specifico", cioè un alimento biologicamente adatto per l'essere umano. È sempre pronto, è sempre fresco (il seno produce latte solo a richiesta), è sempre caldo (ha la stessa temperatura del corpo umano) ed è anche gratis...!

Il latte materno, per meglio adeguarsi alla necessità di crescita del neonato, modifica nel tempo la sua composizione.

## **Produzione**

Il latte materno viene secreto grazie all'azione di alcuni ormoni la cui produzione comincia durante la gravidanza ed aumenta poi sensibilmente alla nascita del bambino.

I principali ormoni che influiscono sul processo della lattazione sono la prolattina e l'ossitocina: la prima è responsabile della produzione del latte, la seconda invece della sua emissione.

Già durante l'ultimo periodo della gravidanza il seno comincia a produrre *il colostro*, una prima forma di latte molto nutriente e concentrata, asso-

lutamente indispensabile per il neonato.

Il colostro è particolarmente ricco di proteine e sali minerali, mentre zuccheri e grassi sono meno abbondanti rispetto al latte maturo. Le proteine contenute nel colostro sono rappresentate soprattutto dall'immunoglobuline di tipo A, che rafforzano la risposta immunitaria del neonato.

Dopo due o tre giorni dal parto, il colostro si trasforma gradualmente in "*latte di transizione*", con un maggiore quantitativo di zuccheri indispensabili per la crescita dei tessuti cerebrali e di grassi, fonte nutrizionale altamente energetica. Dopo tre-cinque giorni l'aumento della prolattina determina la comparsa della montata latte.

La produzione di latte si regolerà in base alle effettive necessità del neonato: più il bambino succhia e più il latte viene prodotto. Il neonato, infatti, tramite la suzione scatena un riflesso nervoso che stimola l'asse ipotalamo-ipofisi a produrre prolattina.

Se il seno non viene svuotato, perché il neonato non succhia, si riduce drasticamente la produzione di prolattina e quindi di latte. È molto importante, quindi, fin dall'inizio, non interferire in alcun modo con i ritmi di suzione del neonato: l'allattamento dovrà essere a richiesta, e non ad orari.

Nel giro di una decina di giorni il seno materno produrrà il latte maturo, denominato anche "*latte perfetto*", che offre al piccolo tutto il nutrimento di cui ha bisogno e nel modo più equilibrato.

La natura ha programmato il latte materno in maniera ottimale a tal punto da renderlo un "sistema biologico". All'inizio della poppata, infatti, il bambino riceve soprattutto acqua e zucchero, perché ha bisogno di liquidi per soddisfare la sua sete e di energie per calmare la sua fame. Poi, a poco a poco, mentre succhia con regolarità, il latte si arricchisce di proteine e, verso la fine della poppata, di grassi necessari anche per dare un senso di sazietà.

## **Cosa raccomanda l'OMS**

L'OMS raccomanda l'allattamento materno esclusivo per almeno i primi sei mesi di vita del bambino, mantenendo il latte materno come alimento principale fino ad un anno e consigliando l'introduzione graduale di cibi complementari. Sug-

gerisce inoltre di proseguire l'allattamento fino ai due anni e oltre se il bambino si dimostra interessato e la mamma lo desidera.

#### **Vantaggi dell'allattamento materno -**

I vantaggi dell'allattamento materno sono sia fisici che psichici: il bambino assume attraverso il latte materno nutrienti e anticorpi e il corpo della donna che allatta produce degli ormoni utili al processo e all'equilibrio post-parto. Il legame affettivo fra madre e bambino viene rafforzato.

Il latte materno è un alimento che risponde completamente ai bisogni del bambino, senza controindicazioni, rischi o eccezioni, ed è insostituibile.

Risulta evidente inoltre che non ha bisogno di preparazioni preliminari, ma è pronto per essere succhiato dal seno della madre in qualunque momento e istantaneamente, e si presenta sempre rispondente alle esigenze del bambino: la composizione, la temperatura, la quantità, la densità sono sempre esattamente quelle necessarie.

L'allattamento al seno soddisfa inoltre bisogni diversi dalla fame, quali la sete (data l'alta percentuale di acqua presente nel latte), il bisogno di consolazione, di contatto e di contenimento, soprattutto nei primi sei mesi ma anche in seguito.

L'assorbimento e la digestione del latte materno è pressoché immediata e integrale.

*Vantaggi per la madre* - L'allattamento al seno è qualcosa di più che un semplice atto di nutrizione poiché ha implicazioni positive non solo per il lattante, ma anche per la donna che allatta. Dunque anche la mamma che si dedica alla nutrizione naturale del proprio bambino gode di un vantaggio in salute. E' ormai abbondantemente dimostrato che la donna che allatta ha una riduzione del rischio di tumori al seno e alle ovaie; questo effetto protettivo è direttamente proporzionale alla durata dell'allattamento al seno.

Durante il periodo dell'allattamento vengono prodotte endorfine che favoriscono il rilassamento e la serenità, e che aumentano l'istinto materno e il legame affettivo con il bambino. Nelle donne che allattano c'è una drastica riduzione dei casi di depressione post-partum.

Inoltre un contatto precocissimo con il bambino (nei primi minuti dopo il parto) stimola la produzione di ossitocina grazie alla quale la contrazione dell'utero risulta più rapida.

L'allattamento frequente ed esclusivo favorisce il

ritardo del ritorno delle mestruazioni e della fertilità, diventando così un buon metodo anticoncezionale naturale, permettendo al corpo della madre di aumentare le proprie riserve di ferro che in genere diminuiscono con le mestruazioni.

Inoltre l'apparato scheletrico della madre, che durante il periodo dell'allattamento al seno rilascia calcio per la produzione di latte, viene in qualche misura rinforzato da questa esperienza ed è più pronto, in età senile, a far fronte all'osteoporosi e alle sue complicanze.

L'allattamento al seno rappresenta per la donna anche un'opportunità per recuperare più in fretta il peso precedente alla gravidanza, dal momento che per produrre latte spende molte calorie.

*Vantaggi per il bambino* - Il bambino, che ha vissuto per nove mesi nell'utero materno, una volta nato ha estrema necessità di continuare a mantenere il contatto continuo con la madre, soddisfacendo i propri bisogni in modo immediato. L'allattamento materno risponde a questa esigenza.

Numerose malattie risultano meno frequenti quando il bambino viene allattato al seno. Questa protezione supera anche il periodo dell'allattamento, mostrando effetti positivi a lunga durata.

In altre parole l'allattamento al seno porta con sé un bonus di salute non solo nei riguardi delle malattie infettive (respiratorie, gastrointestinali, urinarie), ma anche di condizioni come le allergie, l'obesità, l'armonico sviluppo neurointellettivo e del sistema immunitario. I bambini allattati al seno, infatti, richiedono minori cure mediche e vengono meno ospedalizzati.

Chen e coll. hanno evidenziato che i tassi di mortalità infantile postneonatale negli Stati Uniti erano ridotti del 21% nei bambini allattati al seno ed esiste un'evidenza sempre maggiore che dimostra l'associazione tra ridotta incidenza di "Sudden Infant Death Syndrome" ed allattamento al seno.

*Benefici per la comunità* - Sono stati descritti, oltre agli specifici vantaggi per la salute dei lattanti e delle loro madri, anche vantaggi economici per la famiglia e per l'ambiente. Tali benefici includono la potenziale riduzione annuale dei costi sanitari, una riduzione dell'assenteismo dal lavoro per i genitori, un ridotto carico ambientale per l'eliminazione dei contenitori di formule per l'infanzia, una riduzione della richiesta energetica per la produzione e il trasporto di prodotti per l'alimentazione artificiale.

### Controindicazioni all'allattamento al seno

Benché l'allattamento al seno sia ottimale per i lattanti, esistono alcune rare condizioni nelle quali l'allattamento al seno potrebbe non essere nel migliore interesse del lattante.

L'allattamento al seno è controindicato nei lattanti con galattosemia classica (deficit di galattosio 1-fosfato uridiltransferasi); nelle madri affette da tubercolosi attiva non trattata o positive per il virus linfotropico delle cellule T umane di tipo I o II; nelle madri che stanno ricevendo isotopi radioattivi a scopo diagnostico o terapeutico o che hanno subito un'esposizione a materiali radioattivi; nelle madri che stanno ricevendo antimetaboliti o agenti chemioterapici; nelle madri che stanno facendo uso di droghe; nelle madri con lesioni da herpes simplex al seno.

### Condizioni che non costituiscono controindicazione all'allattamento al seno

Alcune condizioni sono state dimostrate essere compatibili con l'allattamento al seno. L'allattamento al seno non è controindicato per i lattanti nati da madri positive all'antigene di superficie dell'epatite

B, da madri con infezioni da virus dell'epatite C, da madri febbrili, da madri che sono state esposte a bassi livelli di agenti chimici ambientali, da madri portatrici sieropositive di citomegalovirus.

Il fumo di tabacco da parte delle madri non costituisce una controindicazione all'allattamento al seno, ma gli operatori sanitari dovrebbero consigliare a tutte le madri dedite al fumo di cessare quest'abitudine il più rapidamente possibile.

Le madri che allattano, infine, devono evitare l'uso di bevande alcoliche, poiché l'alcool si concentra nel latte materno e il suo uso inibisce la produzione di latte.

### Il latte d'asina

L'enorme diffusione di prodotti caseari freschi e la disponibilità di latti in polvere ha determinato un notevole aumento di assunzione di proteine del latte vaccino. Ciò ha probabilmente fatto aumentare la percentuale di soggetti allergici o intolleranti a tali proteine.

L'allergia al latte costituisce certamente la più frequente di tutte le allergie alimentari. Al di sotto dei 2 anni di età interessa il 3-5% di tutti i bambini ed in oltre la metà dei casi si manifesta entro i primi 2-3 mesi di vita; in seguito le manifestazioni si riducono fino a scomparire in quasi tutti i bambini all'età di 10 anni.

In presenza di fenomeni allergici può essere necessario sostituire il latte vaccino con un latte le cui proteine siano di origine vegetale (soia), oppure con latti idrolizzati le cui proteine hanno perso il potere allergizzante. Sia i latti di soia che quelli idrolizzati garantiscono una crescita ottimale al bambino, anche se assunti per molti mesi o per anni. Il loro difetto è quello di non avere un gusto particolarmente gradevole, per cui spesso sono assunti malvolentieri dal lattante.

Tabella 1

#### Composizione media del latte di varie specie (Polidori - 1994)

Tipo di latte	Grasso %	Proteine %	Lattosio %	Ceneri %
Donna	3.38	1.64	6.69	0.22
Asina	1.21	1.74	6.23	0.43
Cavalla	0.85	2.06	6.26	0.35
Vacca	3.46	3.43	4.71	0.78
Capra	4.62	3.41	4.47	0.73
Pecora	7.54	6.17	4.89	0.92

Tabella 2

#### Composizione media della frazione proteica (Travia - 1986)

Tipo di latte	PROTEINE %		
	TOTALI	Caseina	Albumine
Donna	1.03	0.4	0.4
Asina	2.00	0.7	0.6
Cavalla	2.2	1.2	0.3
Bovina	3.3	2.5	0.23
Capra	3.7	3.1	0.6
Pecora	5.3	4.5	1.7

Tabella 3

#### Composizione minerale del latte d'asina e del latte di donna (Salimei - 2000)

Sostanze (mg/kg)	Asina	Donna
Calcio	676.7	318
Fosforo	487.0	150
Potassio	497.2	474
Sodio	218.3	127
Magnesio	37.3	31
Cloruri	336.7	400

Si può inoltre ricorrere a latti di specie animali diverse dai bovini e con un gusto più vicino a quello del latte tradizionale. I più usati sono quelli di capra, asina e cavalla. Purtroppo il bambino che è allergico alle proteine del latte vaccino può essere allergico anche alle proteine dei latti appena citati. A seconda delle statistiche e del tipo di latte, la possibilità che un bambino allergico o intollerante alle proteine del latte vaccino lo sia anche a quello di altri animali varia dal 30 all'80%.

Il latte di capra è poco usato perché contiene proteine simili a quelle del latte vaccino e va sempre integrato con acido folico di cui è privo.

Il LATTE DI ASINA è l'alimento di origine animale con le caratteristiche organolettiche e chimiche più vicine al latte materno (Tabella1-2-3) e presenta una maggiore differenza antigenica nell'assetto proteico rispetto a quello di origine bovina.

*Per tali caratteristiche il latte d'asina può costituire il trattamento d'elezione nei bambini con allergia al latte vaccino nei primi mesi di vita.*

Analogamente a quello umano, il latte d'asina è ricco di acidi grassi mono e polinsaturi, ha un simile rapporto calcio-fosforo e un simile contenuto proteico totale. E' ricco di sostanze con attività probiotica che regolano la flora intestinale, di fattori di rilascio ormonale, di anticorpi, di lisozima.

Il latte di asina appare caratterizzato da un basso contenuto di acidi grassi saturi che, unitamente ad un elevato tenore di insaturi, lo rendono di grande utilità nella prevenzione delle malattie cardiovascolari, autoimmuni e infiammatorie. Da sottolineare l'alto tenore degli acidi grassi polinsaturi della serie 3, costituenti caratteristici degli olii di pesce, che oltre ad influenzare le suddette patologie, svolgono un certo ruolo sull'esito dei trapianti, su alcune forme di neoplasie, sullo sviluppo fisico e neuropsichico.

Inoltre l'elevata percentuale di acidi grassi a catena media ha influenza sui fenomeni di vasodilatazione e agisce sinergicamente con gli acidi grassi a catena corta, contribuendo, in modo indiretto, ad aumentare le difese antiossidanti dell'organismo. Tuttavia i bassi livelli di acido arachidonico (C20:4 6) e di acido docosaesaenoico (C22:6 3), rendono indispensabile un'integrazione alimentare di questi acidi grassi che sono particolarmente rappresentati nelle membrane delle cellule nervose, dei segmenti esterni dei fotorecettori retinici e dell'acrosoma degli spermatozoi, quindi essenziali durante lo sviluppo e la maturazione cerebrale, per il tessuto retinico e per l'apparato riproduttivo.

Problemi ancora aperti rimangono la difficoltà di reperimento del latte d'asina e i costi elevati.

#### Riferimenti Bibliografici

- C. Agostoni, F. Marangoni, A.M. Lammardo, M. Giovannini, E. Riva, C. Galli. *Breastfeeding duration, milk at composition and developmental indices at 1 year among breastfed infants.* Prostagl Leuko Ess FA 2001; 64:105-109
- American Academy of Pediatrics. Policy Statement. Section on breastfeeding. *Allattamento al seno e uso del latte umano.* Pediatrics 2005; 117 (1):105-116.
- B. Chiofalo, V. Azzara, D. Piccolo, L. Liotta, L. Chiofalo. *Il latte d'asina al traguardo della ricerca. Gli acidi grassi nel corso della lattazione.* Large Animals Review ;2004:1-6.
- B. Chiofalo, E. Salimei, L. Chiofalo. *Acidi grassi del latte d'asina: proprietà bio-nutrizionali ed extranutrizionali.* Large Animals Review; 2003:1-6.
- R. Davanzo. *L'allattamento al seno e gli operatori sanitari: la formazione è efficace?* Medico e Bambino 2002; 21: 443-447.
- I. Loran-Duclaux. *Practical advice for women who wants to breast feed.* Arch Pediatr. 2000; 7 (5): 541-548.
- E.L. Mortensen, K.F. Michaelsen, S.A. Sanders, J.M. Reinisch. *The association between duration of breastfeeding and adult intelligence.* JAMA 2002; 287 (18): 2365-2371
- G. Rapisardi et al. *Raccomandazioni per l'assistenza alla madre in puerperio ed al neonato.* Rivista Italiana di Pediatria 2000; 26:232-243.
- A. Rubino, A. Pisacane. *L'allattamento al seno.* Società Italiana di Pediatria. Collana monografica. 1999; 2: 25-31.
- SIN. *Le raccomandazioni sull'allattamento materno per i nati a termine, di peso appropriato, sani.* Medico e Bambino 2002; 21: 91-98.

# Allergia alle proteine del latte vaccino: ruolo del latte d'asina

CHIARELLI F, DI MICHELE S

Nel 1995 il Comitato per le Reazioni Avverse agli Alimenti dell'*European Academy for Allergy and Clinical Immunology* (EAACI) ha definito "allergia alimentare" tutte le reazioni avverse agli alimenti scatenate da meccanismo di tipo immunologico (IgE mediate e non IgE mediate) riservando il termine di "intolleranza" alle reazioni non mediate immunologicamente come deficit enzimatici, metabolici e intossicazioni da alimenti.

In base a tale classificazione le manifestazioni gastrointestinali da latte vaccino note al pediatra come "intolleranza alle proteine del latte vaccino", scatenate da meccanismo immunologico non IgE mediato rientrano nelle forme di "allergia o ipersensibilità alimentare". Nel rispetto della classificazione, ma per consuetudine d'uso pediatrico si parla di **allergia/intolleranza alle proteine del latte vaccino (APLV/IPLV)** intendendo così tutte le forme IgE e non IgE mediate (1).

## Epidemiologia

L'APLV/IPLV costituisce la più frequente allergia alimentare nel primo anno di vita. Sebbene sintomi suggestivi di APLV/IPLV si riscontrano in circa il 5-15% dei bambini nei primi anni di vita, studi prospettici basati su rigorosi criteri diagnostici (challenge in doppio cieco versus placebo) indicano che la reale prevalenza dell'APLV/IPLV è del 2-3% dal primo al terzo anno di vita (2).

## Patogenesi

Il contenuto proteico del latte vaccino è più elevato di quello del latte materno (3.6% contro 0.9-1%) e le proteine sono rappresentate per il 18% dalle proteine sieriche e per l'80% da caseina (contro il 40% e il 60% rispettivamente nel latte materno).

La caseina risulta positiva con maggior frequenza nei test cutanei, anche se la beta-lattoglobulina sembra l'allergene responsabile del maggior numero di reazioni al challenge (3). La componente proteica del latte vaccino contiene 25 distinte proteine potenzialmente allergizzanti ed alcune di esse, come la a-ca-

seina e b-lattoglobulina, non sono presenti nel latte materno (tabella 1).

Il trattamento termico ad alte temperature, l'omogenizzazione e la pastorizzazione non eliminano l'allergenicità delle proteine del latte vaccino.

Esiste una reattività crociata tra le PLV, in particolare per le caseine, e quelle di altri animali (ad esempio capra e pecora), di crescente moda come sostituti del latte vaccino nelle forme APLV/IPLV (4)

Il mancato conseguimento della tolleranza orale è frutto dell'alterazione di un delicato equilibrio tra fattori di rischio (genetico: stato atopico; età di introduzione dell'allergene, dose) e fattori ambientali protettivi.

La fase in cui è più elevato il rischio di sensibilizzazione si verifica quando il sistema immune neonatale, caratterizzato in prevalenza da linfociti TH2 va incontro a progressiva maturazione con un processo di immunodeviiazione verso una popolazione di tipo TH1. Tale immunodeviiazione si verifica sotto la spinta di stimoli antigenici ambientali, in primis la flora commensale del tratto gastroenterico ed il carico antigenico del latte materno.

Il latte materno non offre pertanto solo protezione passiva ma stimola attivamente il sistema immunitario del neonato. Tuttavia lo stato atopico della madre può condizionare differenze nella composizione del latte materno favorenti lo sviluppo di allergia nel lattante.

Tabella 1

## Composizione proteica del latte vaccino e materno (Polidori - 1994)

	Latte vaccino (gm/l)	Latte materno (gm/l)
<b>Caseina</b>	24-28	2-3
a-Caseina	17-22	No
b-Caseina	3-4	2-3
k-Caseina	9-11	Tracce
<b>Sieroproteine</b>	5-7	4-8
b-lattoglobulina	2-4	No
a-lattoalbumina	0.6-1.7	2-3
Immunoglobuline	0.5-1.8	0.5-1.0
Siero albumina	0.2-0.4	0.3
Lattoferrina	Tracce	1-3
Lisozima	Tracce	0.05-0.25

### Sintomatologia

E' estremamente variabile manifestandosi con sintomi a carico della cute, dell'apparato gastroenterico e respiratorio, che possono anche coesistere nello stesso paziente: dermatite atopica (5), ipersensibilità gastrointestinale immediata da latte vaccino, esofagite, gastrite, gastroenterite eosinofila, enterocolite da latte vaccino, proctite, enteropatia da latte vaccino, coliche (6), stipsi. Manifestazioni respiratorie (dalla rinite cronica alla tosse persistente o all'asma (spesso in associazione alla dermatite atopica, alle polmoniti ricorrenti attribuiti ad inalazione di latte) (7).

### Diagnosi

- IgE totali e specifiche (buona correlazione con il test di provocazione orale)(8)
- Prick test, eventualmente prick-by-prick (sensibilità dal 14 al 78% a seconda delle casistiche ma in genere minore di quella delle IgE, specificità dal 86 al 98%, valore predittivo positivo dal 69 al 91%, valore predittivo negativo dal 51 al 95% (maggiore nelle reazioni immediate),
- Atopy Patch Test (sensibilità dal 44 al 61%, specificità dal 81 al 96%, valore predittivo positivo dal 63 al 95% arriva al 100% se combinato con Prick positivo e IgE specifiche (9,10), valore predittivo negativo dal 50 al 60% circa, ma arriva al 93% nelle reazioni tardive).
- Test di provocazione orale o challenge (rappresenta ancora il test di riferimento per la diagnosi di APLV/IPLV, in grado cioè di definire il nesso causale fra ingestione alimento e reazione clinica (11); è ovviamente sconsigliato nei bambini con storia di anafilassi)

#### Altri esami:

- PHmetria esofagea (pazienti con alterata motilità gastrica e pattern di RGE)
- Test di permeabilità intestinale (valutazione grado di infiammazione della mucosa)
- Endoscopia (tipo di lesioni)
- Biopsia ed esame istologico (infiltrato infiammatorio di tipo allergico: presenza di eosinofili, profilo citochine dei linfociti T antigene specifici della lamina propria)

### Prognosi

L'80-85% dei bambini con APLV/IPLV diviene tollerante verso i 3 anni (12). Tuttavia il 35% dei pazienti sviluppa sensibilizzazione ad altri alimenti e il 20-25% non perde la propria reattività clinica.

### Terapia

Denominatore comune ad ogni tipo di approccio dietoterapico per queste forme è la sospensione del latte vaccino e di tutti i cibi che eventualmente lo contengono. Nei bambini allattati al seno la completa eliminazione delle proteine allergizzanti dalla dieta della nutrice.

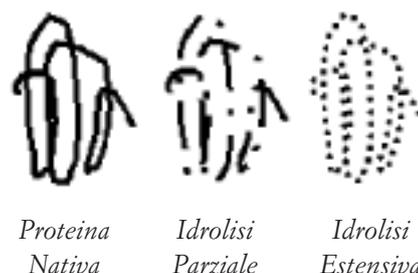
### Uso di idrolisati.

Nei bambini che assumono formule adattate si devono impiegare prodotti con allergenicità ridotta. A tale scopo sono stati messi in atto vari tipi di intervento in grado di cambiare la struttura e la conformazione delle proteine in esso contenute. Un primo tentativo per realizzare prodotti ipoallergenici è stato quello relativo all'uso del calore. E' noto che la temperatura, specie se elevata, e' in grado di modificare la struttura terziaria di tali proteine (anche se questo discorso e' valido per le sieroproteine e non per la caseina che rimane stabile anche ad alte temperature). Un secondo meccanismo è l'idrolisi enzimatica che in genere avviene attraverso l'uso di specifiche proteasi (endo ed esopeptidasi). Se le proteasi verranno utilizzate in modo esaustivo si genereranno prodotti estensivamente idrolisati (peptidi piccoli e aminoacidi liberi), se al contrario sarà blanda si avranno prodotti parzialmente idrolisati (peptidi residui di peso molecolare elevato) (figura 1).

Da un punto di vista terapeutico, sono considerate ipoallergeniche quelle formule che sono tollerate da almeno il 90% dei bambini con sicura storia di allergia alle proteine del latte vaccino.

Sotto il profilo allergologico maggiore sarà il grado d'idrolisi (DH) minore sarà il livello di allergenicità. In base al peso molecolare sono definite formule estensivamente idrolisate quelle che hanno almeno il 95% dei peptidi residui con un PM<1000 dalton.

Figura 1  
Schematizzazione del processo di idrolisi



Ben presto però ci si è accorti che alcuni bambini con APLV potevano avere reazioni allergiche anche a prodotti d'idrolisi spinta. Tale evenienza è stata correlata alla presenza di peptidi immunoreattivi nelle formule in commercio. L'introduzione di controlli immunologici durante le fasi produttive ha consentito la realizzazione di nuove formule caratterizzate da un'idrolisi di tipo armonico, da un più appropriato valore nutrizionale e da una migliore palatabilità. Gli idrolisati spinti sembrano tollerati dai bambini con APLV anche se sono necessari ulteriori studi clinici e nutrizionali. (13)

#### **Latti di soia, latti di derivazione da altri mammiferi e trattamenti alternativi.**

L'utilizzo di proteine con formule della soia è controverso. Rappresentano una valida alternativa per i pazienti con allergia alle proteine del LV. Diversi studi hanno documentato una normale crescita, adeguati indici nutrizionali e normale mineralizzazione ossea (14,15,16). Tuttavia non sono ipoallergenici soprattutto per la presenza di una glicina di 30 Kda e di una G<sub>2</sub> glicina di 22 Kda. La prevalenza di allergia alla soia varia dal 3 al 40 % (17).

Secondo l'American Academy of Pediatrics può essere considerato nelle forme di APLV senza compromissione gastrointestinale dopo i 6 mesi di vita (18).

Tuttavia non è consigliato nei bambini nati pretermine e in quelli con enterocolite da latte vaccino o altre enteropatie IgE mediate (19).

Non sono consigliati i preparati a base di capra o pecora per l'alta incidenza di cross-reattività con scatenamento di reazioni gravi; mentre, come approfondiremo, esistono segnalazioni di buona tollerabilità di latti di asina e di cavalla.

Le diete oligoantigeniche (dieta di Rezza) sono sconsigliate dopo i 4 mesi di età per la presenza di proteine intere. Risulta ancora in corso di studio l'uso dei probiotici mirato a condizionare la risposta immune del lattante attraverso la microflora intestinale (20).

Sono invece a rischio di shock anafilattico i tentativi di desensibilizzazione orale.

#### **Ruolo del Latte d'Asina.**

Sin dall'antichità sono note le virtù del latte d'asina, riconducibili alle proprietà nutraceutiche e in particolare all'attività probiotica, nonché alla presenza di fattori di crescita, fattori di rilascio ormonale, immunoglobuline e peptidi bioattivi.

Alcuni studi hanno chiaramente dimostrato che

il latte d'asina, l'alimento di origine animale con le caratteristiche organolettiche più vicine al latte materno (tabella 2), può costituire il trattamento d'elezione in bambini con allergie alimentari nei primi mesi di vita, che spesso non rispondono ad altre terapie. A differenza degli altri sostituti del latte materno, caratterizzati da deficienze nutrizionali e induzione di reazioni allergiche, questo alimento naturale si dimostra in grado non solo di nutrire a basso rischio di allergicità, ma anche di permettere al neonato di costruirsi un normale e completo sistema immunitario.

Inoltre nel latte d'asina il contenuto medio di caseina ed albumine, che si correla al potere antigenico, è risultato assai simile a quello del latte materno, così come il tenore in ceneri ed in lattosio. Quest'ultimo è presumibilmente l'elemento più importante in quanto, oltre a rendere piacevole il sapore, stimola l'assorbimento intestinale del calcio influenzando positivamente la mineralizzazione ossea nei primi mesi di vita. Inoltre il lattosio, rappresentando il substrato per un corretto sviluppo della flora intestinale, ha anche un ruolo probiotico.

La concentrazione azotata media è prossima al tenore proteico del latte di donna. Tra i minerali, il calcio ed il fosforo sono presenti in quote più elevate rispetto a quanto determinato nel latte materno. Il rapporto calcio/fosforo nel latte d'asina risulta mediamente pari a 1,48 e quindi intermedio tra quelli rilevati nel latte umano e nel latte vaccino.

Non trascurabile è la presenza dei peptici bioattivi lisozima, lattoferrina e lattoperossidasi, presenti nel latte d'asina in quantità prossime a quelle del latte materno e superiori al latte vaccino che consentirebbero un ruolo importante nell'inibizione della crescita di microrganismi potenzialmente patogeni nell'intestino del neonato.

La scarsità di lipidi, pur rappresentando un pro-

Tabella 2

#### **Composizione media del latte di varie specie e valore energetico (Polidori - 1994)**

Tipo di latte	Residuo secco %	Grasso %	Proteine %	Lattosio %	Ceneri %	Valore energetico KJ/Kg
Donna	12.43	3.38	1.64	6.69	0.22	2855.6
Asina	9.61	1.21	1.74	6.23	0.43	1939.4
Cavalla	9.52	0.85	2.06	6.26	0.35	1877.8
Bovina	12.38	3.46	3.43	4.71	0.78	2983.0
Capra	13.23	4.62	3.41	4.47	0.73	3399.5
Pecora	19.52	7.54	6.17	4.89	0.92	5289.4

blema a causa dell'insufficiente apporto calorico, potrebbe essere facilmente integrata con l'aggiunta di idonei grassi e/o olii.

L'insieme di questi dati sembra incoraggiare l'ipotesi relativa alla produzione di latte di asina da destinare all'alimentazione dei bambini in sostituzione o a complemento di formulati alternativi al latte vaccino.

I primi studi clinici sul ruolo del latte d'asina sembrano confermare tale ipotesi. In particolare il latte d'asina è stato utilizzato con successo in 9 bambini con sintomi gravi di poliallergia alimentare (21), e successivamente, in 21 bambini con poliallergia alimentare che risultavano intolleranti anche alle formule estremamente idrolisate (22).

Pertanto il latte d'asina possiede le potenzialità per divenire una valida alternativa al latte vaccino nei bambini con APLV/IPLV, ma è necessario un potenziamento della ricerca scientifica mirata sia all'approfondimento delle conoscenze sulla qualità del prodotto, sulla corretta gestione degli allevamenti e sugli aspetti correlati alla conservabilità del latte nonché all'emanazione di indirizzi a carattere normativo concernenti la produzione igienica del latte asinino e dei parametri di qualità essenziali.

## Bibliografia

- Novembre E, Vierucci A. Milk allergy/intolerance and atopic dermatitis in infancy and childhood. *Allergy* 2001; 56; Suppl: 67: 105-108.
- Host A. Frequency of cow's milk allergy in childhood. *An Allergy Asthma Immunol* 2002;89(Suppl): 33-37.
- Host A. Cow's milk protein allergy and intolerance in infancy. Some clinical, epidemiological and immunological aspects. *Pediatr Allergy Immunol* 1994; 5: 5-39.
- Bellini-Businco B, Paganelli R, Lucenti P, Giampietro PG, Perborn H, Businco L. Allergenicity of goat's milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1191-4.
- Burks AW, Janes JA, Hiegel A. Atopic dermatitis and food hypersensitivity reactions. *J Pediatr* 1998; 132: 132-6.
- Lucassen PL, Assendelft WG, Gubbels JW, van Eijkjt, van Geldrop WJ, Neven AK. Effectiveness of treatment for infantile colic: systematic review. *Brit Med J* 1998; 316: 1563-9.
- Novembre E, de Martino M, Vierucci A. Food and respiratory allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 81: 1059-65.
- Sampson HA. Utilità of food specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 891-6.
- Isolauri E, Turjanmaa K. Combined skin prick test and patch testing enhances identification of food allergy in infants with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:9-15.
- Roehr C, Reibel S, Ziegert M, Sommerfeld C, Wahn U, Niggemann B. Atopy patch test together with level of specific IgE reduces the need for oral food challenges in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:548-53.
- Sampson HA. Food Allergy Part 2: diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:981-9.
- Sampson HA. Food Allergy Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 717-28.
- Terraciano L, Isoardi P, Arrigoni S, Zoja A, and Martelli A. Use of hydrolysates in the treatment of cow's milk allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;89( Suppl): 86-90.
- Koheler L, Meenwisse G, Mortensson N. Food intake and growth of infants between six and twenty-six weeks of age on breast milk, cow's milk formula, or soy formula. *Acta Paediatr Scand* 1984; 73: 40-48
- Mendez MA, Anthony MS, Arab L. Soy based formulae and infant growth and development: a review. *J Nutr* 2002 Aug ; 132(8): 2127-30.
- Stromb BL, Schinnar R, Zeigler EE et al. Exposure to soy-based formula in infancy and endocrinological and reproductive outcomes in young adulthood. *JAMA* 2001 Aug 15; 286(7) 807-14.
- Muraro MA, Giampietro PG, Galli E. Soy formulas and nonbovine milk. *An Allergy Asthma Immunol* 2002;89(Suppl): 97-101.
- American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Soy protein-based formulas: recommendations for use in infant feeding. *Pediatrics* 1988; 101: 148-153.
- American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Hypoallergenic infant formulas. *Pediatrics* 2000; 106: 346-349.
- Moro GE, Warm A, Arslanoglu S, Miniello V. Management of bovine protein allergy: new perspectives and nutritional aspects. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;89( Suppl): 91-96.
- Iacono G, Carroccio A, Cavataio F, Montalto G, Soresi M, Balsamo V. Use of ass' milk in multiple food allergy. *J pediatr Gastroenterol Nutr* 1992 Feb; 14(2): 177-81
- Carroccio A, Cavataio F, Montalto G, D'Amico D, Alabrese L, Iacono G. Intolerance to hydrolysed cow's milk proteins in infants: clinical characteristics and dietary treatment. *Clin Exp Allergy* 2000 Nov; 30(11):1597-603.

# Il trattamento della stipsi allergica in età pediatrica con latte di asina: studio clinico

Giuseppe Iacono\*, Calogero Scalici\*,  
Gabriella Iannolino‡, Domenico D'Amico,  
Lidia Di Prima°, Giuseppe Pirrone°,  
Giuseppe Ambrosiano°, Antonio Carroccio°.

\*U.O. Gastroenterologia,  
Ospedale Di Cristina Palermo e Divisione di Medicina Interna, Università di Palermo

‡Divisione di Medicina Interna  
Università di Palermo

°Istituto Zootecnico Sperimentale Regione Sicilia

°Medico di Medicina Generale AUSL 6 Palermo

**Riassunto:** Le allergie alimentari nei paesi occidentali sono in aumento esponenziale, ciò si ritiene essere legato ad una differente stimolazione del sistema immunitario, rispetto al passato e ai paesi in condizioni socio economiche carenti. L'APLV è la più frequente tra le allergie alimentari dell'infanzia, tra i possibili trattamenti, sempre più dati si vanno accumulando in letteratura circa l'efficacia e la sicurezza del latte d'asina che possiede caratteristiche qualitative e quantitative della quota proteica che lo rendono simile al latte materno.

La stipsi cronica come le allergie è una patologia in continua crescita nei paesi occidentali, una forma di stipsi di non infrequente riscontro è la stipsi allergica che trova nell'assunzione di latte d'asina un efficace trattamento

**Introduzione:** L'allergia alimentare è una condizione di alterata reattività dell'organismo nei confronti di alimenti ingeriti che si manifesta con una serie di eventi mediati da meccanismi immunologici, IgE e non IgE mediati.

La più frequente allergia alimentare in età pediatrica è l'allergia alle proteine del latte vaccino (APLV) (1;2) ha un'incidenza che varia dallo 0,3 al 7% nei lattanti, a seconda delle diverse casistiche elaborate in diversi paesi (3;4), autolimitantesi nella maggior parte dei casi (2/3 dei casi si risolvono entro i 3 anni), la tendenza alla risoluzione è tanto più alta quanto più bassa è l'età di insorgenza, in 1/3 dei casi però rimane attiva anche dopo i 3-4 anni, nel 10% dei casi evolve verso uno stato di polintolleranza alimentare, dive-

nendo un serio problema di sicurezza alimentare dalla prima infanzia agli anni della scolarizzazione (5,6).

Tra le 40 frazioni proteiche antigeniche del latte vaccino, quelle maggiormente coinvolte nell'innescò della reazione immune sono: la b lattoglobulina, la caseina, la a lattoalbumina.

Dati epidemiologici recenti evidenziano come le APLV siano in continuo aumento nella primissima infanzia e anche negli allattati esclusivamente al seno, soprattutto nelle nazioni a più alto tenore socio-economico, è infrequente infatti il riscontro di tali patologie in paesi in via di sviluppo. I motivi che vengono evocati per tale situazione sono legati ad una differente stimolazione del sistema immunitario secondaria a migliorate condizioni igieniche e al più largo consumo di cibi semisterili con alterazione del pattern di batteri che compongono la flora intestinale normale (hygiene hypothesis, secondo la quale "sporco è bene"), con un'alterazione del rapporto tra sensibilità e tolleranza antigenica. Le condizioni di APLV o di PA (polintolleranza alimentare) si presentano spesso con rigurgito, vomito, diarrea, dermatite, ritardo di crescita, rifiuto dell'alimento, asma, shock, e con un sintomo che solo di recente è stato correlato con l'allergia alimentare e con l'APLV in particolare cioè la stipsi.

La stipsi cronica intesa come emissione difficoltosa ed infrequente di feci di consistenza dura è una condizione sempre più frequente nei paesi a sviluppo socio-economico elevato, sicuramente ciò è da attribuire ad aspetti alimentari e psicologici. La stipsi è causa del 25% di tutti gli accessi presso gli ambulatori di gastroenterologia pediatrica; nel 90% si tratta di stipsi funzionali nel 10% di stipsi organiche, le stipsi funzionali sono da attribuire a cause dietetiche e psicologiche, le forme organiche sono determinate da patologie neurologiche, anatomiche, endocrine, metaboliche.

Una forma particolare di stipsi è quella su base allergica, infatti solo di recente il sintomo stipsi cronica è stato compreso tra i sintomi altamente suggestivi di APLV in età pediatrica, questo sintomo si associa spesso al riscontro di ragadi anali, entrambe condizioni refrattarie a trattamenti classici. In questi

piccoli pazienti è facile riscontrare elevati livelli di IgE specifiche, l'infiltrato eosinofilo della mucosa rettale e un rallentamento del transito intestinale a livello rettale con ipertono dello sfintere anale interno, inoltre è frequente l'anamnesi personale o familiare positiva per atopia e risponde eccellentemente alla dieta di esclusione.

Nelle APLV è quasi peculiare il fatto che i sintomi possono essere di intensità e tipo variabili nel tempo (patomorfoosi) anche nello stesso soggetto: ad esempio, episodi di vomito saltuario delle fasi iniziali possono scomparire per essere sostituiti da stipsi ostinata, o da broncospasmo. A causa di ciò, sono frequenti le difficoltà diagnostiche all'esordio e nel follow-up: in particolare, eventuali errori dietetici devono essere sempre sospettati alla comparsa di uno più dei sintomi sopra elencati in un soggetto con diagnosi di APLV o di PA. Il trattamento razionale delle allergie alimentari in generale prevede l'esclusione dalla dieta degli alimenti nocivi e la loro sostituzione con altri ipoallergenici: in atto, vengono utilizzati formule latte a base di soia, di idrolisati proteici spinti e formule elementari, e la cosiddetta "dieta di Rezza". Gli esiti di questo trattamento sono a volte alterni: frequente il rifiuto per il gusto poco gradito, i costi gestionali elevati, ed il pericolo persistente di manifestazioni allergiche gravi anche verso questi alimenti ritenuti "sicuri". Alcuni studi hanno infatti chiaramente dimostrato che il latte di asina, produzione di origine animale con le caratteristiche composizionali e organolettiche più vicine al latte materno, può costituire l'alimento d'elezione in bambini con allergie alimentari nei primi mesi di vita, spesso refrattarie ad altri trattamenti, consentendo allo stesso tempo al paziente la formazione di un normale e completo sistema immunitario. Vale la pena sottolineare inoltre, che rispetto ai pur validi sostituti industriali del latte materno, l'uso di un prodotto naturale come il latte d'asina presenta considerevoli vantaggi: l'elevato contenuto di lisozima, efficace batteriostatico, può svolgere, così come nel redo, una benefica funzione regolatrice sulla microflora di tutto l'apparato digerente oltre che sulle delicate fermentazioni intestinali del lattante inoltre, rispetto ai prodotti sostitutivi in polvere, infine, caratterizzati dal sapore di "cotto", per gli elevati trattamenti termici subiti, le caratteristiche organolettiche del latte d'asina, anche sottoposto a pastorizzazione, sono senz'altro più gradevoli e stimolanti per il gusto.

In questa ottica è stato siglato nel Luglio del 2004

il protocollo di intesa tra Istituto Zootecnico Sperimentale per la Sicilia e l'Ospedale G. Di Cristina ARNAS di Palermo, per sperimentare l'uso del latte d'asina nella alimentazione dei bambini affetti da allergia alle proteine del latte vaccino e poliallergie alimentari. Altri Istituti dell'Università di Palermo (Prof. A. Carroccio e Prof. G. Rimi, del Policlinico di Palermo), in atto studiano il ruolo di questo alimento nella terapia dell'osteoporosi e dell'arteriosclerosi, nel recupero degli infartuati cardiaci.

**Materiali e metodi:** L'U.O. di Gastroenterologia Pediatrica dell'Ospedale G. Di Cristina ha arruolato i pazienti affetti da APLV e da polintolleranza alimentare, la diagnosi è stata effettuata in base ai criteri riportati in letteratura internazionale: challenge diagnostico dopo dieta di esclusione, ricerca di indicatori specifici di allergia Rast, Prick test e indicatori aspecifici di allergia, Prist eosinofili ematici e eosinofili su striscio muco fecale, sangue occulto fecale.

I pazienti con stipsi cronica sono stati peraltro sottoposti ad un'indagine manometrica anorettale al fine di rilevare i valori pressori basali ed ad una valutazione rettoscopica con biopsia rettale, queste indagini sono state eseguite all'arruolamento e alle challenge con latte vaccino.

All'arruolamento dopo la firma del consenso informato da parte dei genitori, è stato effettuato prelievo ematico per la valutazione della crasi ematica, parametri nutrizionali, indici di citolisi, ed una valutazione antropometrica (misurazione del peso e altezza) quindi compilata la scheda di partecipazione, si consegnava la certificazione per il ritiro della razione dell'alimento in base al giudizio del pediatra responsabile dello studio, presso l'ISZS, si consigliava altresì di integrare il latte con olio di semi di girasole nella quantità del 4% per aumentarne il valore calorico, fisiologicamente basso, infine si concordava un calendario di visite di controllo periodiche nelle quali sarebbero stati raccolti nuovi dati antropometrici.

Al raggiungimento della tolleranza verso le proteine latte vaccino dimostrato con challenge in aperto, i partecipanti venivano sottoposti alla rilevazione di dati auxologici e alle stesse indagini ematochimiche dell'arruolamento.

L'ISZS ha fornito il latte d'asina secondo l'ordine cronologico di invio della certificazione, e secondo le disponibilità del momento, nei periodi in cui il latte d'asina non poteva essere fornito dall'istituto zootec-

nico i pazienti si sono riforniti a propria cura presso altri produttori di latte d'asina ma non hanno mai interrotto il trattamento dietetico se non previa comunicazione al pediatra responsabile dello studio.

**Risultati:** Dall'agosto 2004 al giugno 2006 sono stati arruolati 68 pazienti: 33 maschi e 35 femmine, presentavano APLV: 59 pz con età tra 20 giorni e 22 mesi (età media 4 mesi); mentre poliallergia alimentare: 9 pz con età tra 11 mesi e 13 anni (età media 3 anni e 10 mesi). Degli arruolati 5 pz APLV non hanno però mai assunto latte d'asina fornito dall'ISZS, pur se sono stati seguiti dal nostro centro sino al raggiungimento della tolleranza alle proteine del latte vaccino, 7 pz APLV sono usciti volontariamente dallo studio, senza che sia stato possibile rilevare tutti i dati di follow-up.

Dei 68 pazienti 43 presentavano familiarità per atopia, in 47 si rilevava positività ai prick test, 34 su 68 positività ai RAST.

Dei 9 pazienti poliallergici: 5pz erano allergici a latte vaccino e uovo, 3 pz allergici a latte vaccino, uovo e pesce, 1 pz allergico a latte vaccino, pesce, arachidi e pesca.

Dei 68 pazienti studiati 26 pz (14 maschi, 12 femmine, età media 20 mesi, 20 APLV e 6 poliallergici) presentavano stipsi cronica (meno di 3 evacuazioni difficoltose a settimana di feci di consistenza dura), con iperemia perianale e ragadi, di questi 9 pz riferivano comparsa del sintomo all'interruzione del latte materno, dei 26 pz, 18 presentavano familiarità per atopia; 16 avevano prick test positivi per frazioni proteiche del latte, 12 anche RAST positivi, lo studio manometrico anoretale evidenziava in tutti un ipertono anale (> 85 mmHg). Sono stati sottoposti a rettoscopia che ha evidenziato in tutti una mucosa anale con pattern vascolare assente, edematosa con un infiltrato eosinofilo all'istologia.

I dati auxologici di base dei pazienti affetti da stipsi allergica seguiti nel nostro studio presentavano dei dati crescita ponderale sotto la media per età (50 °C), in 12 su 26 pz:

I dati staturali rilevavano una statura inferiore al 50°C in 9 pz su 26.

Dai dati ematochimici si rilevava in 16 casi su 26 di pazienti APLV e poliallergici con stipsi cronica una riduzione della concentrazione di Hb entro 2 gr rispetto alla media, con riduzione di MCV e MCH ed MCHC; in 2 casi su 26 una riduzione della concentrazione di Hb di più di 2 gr rispetto alla media

per età, in 17 casi su 26 una carenza di ferritina. I pazienti con dati ematochimici alterati, hanno eseguito durante i controlli clinici di follow-up dei controlli ematici per valutarne l'evoluzione.

Durante i controlli clinici eseguiti con cadenza trimestrale è stato notato.

- in tutti i soggetti una pressochè completa risoluzione del sintomo stipsi con evacuazioni giornaliere di feci morbide.
- un miglioramento dei parametri staturali in tutti i soggetti.
- nessuna manifestazione di ipersensibilità al latte d'asina.
- nessuna infezione da riferire a trasmissione con il latte d'asina.

Dei 20 soggetti APLV con stipsi allergica seguiti in follow-up 18 pz hanno raggiunto la tolleranza dopo un periodo di trattamento con latte d'asina, mediamente, di 9-12 mesi.

Dei 6 poliallergici: 3 pz hanno raggiunto la tolleranza per il latte vaccino, mentre in 2 casi dopo challenge con latte vaccino si è verificata una ripresa della sintomatologia allergica e quindi si è reso necessario un ritorno al trattamento con latte d'asina con risoluzione della stipsi, 1 caso è di recente arruolamento ed è tutt'ora in trattamento.

I dati ematochimici rilevati durante i controlli clinici e all'uscita dallo studio per avvenuta tolleranza hanno mostrato in tutti una normalizzazione dei valori dell'emoglobina, della ferritina. Nei casi di ipoferritinemia con anemia è stata eseguita terapia marziale con 2 mg/kg/die in 3 somministrazioni per 2 mesi. I dati manometrici evidenziavano una normalizzazione del tono anale di base già dopo qualche mese dall'inizio del trattamento con latte d'asina in tutti i soggetti, mantenendosi normali anche dopo il raggiungimento della tolleranza. Il quadro di proctite endoscopicamente rilevato alla diagnosi si normalizzava completamente dopo trattamento con latte d'asina con scomparsa dell'infiltrato eosinofilo.

### **Conclusioni:**

I dati riportati, confermano ciò che già è pubblicato in letteratura circa la sicurezza e l'efficacia del latte d'asina nel trattamento delle APLV e delle poliallergie alimentari ed in particolare nel trattamento delle stipsi su base allergica, permettendo ai pediatri e agli allergologi di poter contare su di un valido ed affidabile alleato nella difficile battaglia contro le allergie alimentari.

Ringraziamenti: Un ringraziamento particolare al Dr. Nino Amato Commissario Straordinario Istituto Zootecnico Sperimentale Regione Sicilia per il contributo alla realizzazione del presente lavoro scientifico.

### **Bibliografia essenziale**

Iacono G., Carroccio A., Cavataio F., Montalto G., et al. Use of ass's milk in multiple food allergy. *J. of Pediatric Gastroent. and Nutr.* 1992; 14: 177-181

Coppola R., Salimei E., Sorrentino E., Nanni M., Succi M., Belli Blanes R., Grazia L. Latte d'asina: un substrato ideale per la preparazione di bevande probiotiche, 36° Simp. Int. Zoot., Ancona 27 Aprile 2001, 57-61

Fantuz F., Vincenzetti S., Polidori P., Vita A., Polidori F., Salimei E. Study on the protein fractions of donkey milk. *Proc. ASPA XIV Congress, Firenze* 12-15 June, 2001: 635-637

Salimei E., Belli Blanes R., Marano A., Ferretti E., Varisco G., Casamassima D. *Produzione quali-quantitativa di latte d' asina: risultati di due lattazioni*, 35° Simp. Int. Zoot., Ragusa 25 Maggio 2000a, 315-322.

Dell'Orto, V., Salimei E., Bontempo V., Fantuz F., Toppino P.M., Contarini G., Dairy mare's milk composition: I. yield and composition of milk and relation with some plasma metabolites, *J. Dairy Sci.* 1994 ; 77 (suppl. 1) : 347 (Abstr.).

Salimei E., Bontempo V., Dell'Orto V. Nutritional status of the foals related to the age and to mares' feeding. *Pferdeheilkunde* 1996a ; 245-248

Anderson G.J., Connor W.E., Corliss J.D. Docosahexaenoic acid in the preferred dietary n-3 fatty acid for the development of the brain and retina. *Ped. Res.* 1990 ; 27 : 89-97

Van Houwelingen AC., Dalby Sorensen J., Hornstra G., Simonis MMG., Boris J., Olsen SF., Secher NJ. Essential fatty acid status in neonates after fish oil supplementation during late pregnancy. *Br. J. Nutr.* 1995; 74: 723-731

Pelto L., Isolauri E., Lilius EM., Nuutila J., Salminen S. Probiotic bacteria downregulate the milk induced inflammatory response in milk hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin. Exp. Allergy* 1998 ; 28 : 1474-1479

European Allergy White paper. The UCB Institute of Allergy, 1997. ISBN 2-87301-018-5 page 29.

Gerrad JW, McKenzie J. Golubot N, Garson JZ, Maningas CS. Cow's milk allergy: prevalence and manifestation in an unselected series of newborn.

*Acta Paediatr. Scand.* 1973; 234: 1.

Verkasalo M, Kuitunen P, Savilahti E, Tiilikainen A. Changing pattern of cow's milk intolerance . *Acta Paediatr. Scand.* 1981; 70: 289-95.

Vitoria JC, Sojo A, Rodriguez Soriano J. Changing pattern of cow's milk intolerance . *Acta Paediatr. Scand.* 1990; 79: 566-7.

Murch S, Walker-Smith J, The immunology of Coeliac Disease. *Annales Nestlè*, 1993; 51: 59-65.

Walker-Smith JA. Dietary protein intolerance. In: *Diseases of the small intestine in childhood*. 3rd Edn, Butterworth's, London 1988: 144-184.

Hill DJ, Cameron DJS, Francis DEM, Gonzales-Andaya AM, Hosking CS. Challenge confirmation of late onset reaction to extensively hydrolysed formulas in infants with multiple food protein intolerance. *J Allergy Clin. Immunol.* 1995; 96: 386-94.

Carroccio A, Montalto G, Custro N, Notarbartolo A, et al. Evidence of very delayed clinical reactions to cow's milk in cow's milk-intolerant patients. *Allergy* 2000; 55: 574-9.

Ellis MH, Short JA, Heiner DC. Anaphylaxis after ingestion of a recently introduced hydrolysed whey protein formula. *J Pediatr*, 1991; 118: 74-7.

Saylor JD, Bahana SL. Anaphylaxis after ingestion of a recently introduced hydrolysed whey protein formula. *J Pediatr*, 1991; 118: 71-4.

Isolauri E, Sutas Y, Makinen-Kiljunen S, Oja SS, Iso-somppi R, Turjanmaa K. Efficacy and safety of hydrolysed cow milk aminoacid derived formulas in infants with cow milk allergy. *J. Pediatr.* 1995; 127: 550-7.

Carroccio A, Cavataio F, Montalto G, et al. Intolerance to hydrolysed cow's milk proteins in infants: clinical characteristic and dietary treatment. *Clin. Exp. Allergy* 2000; 30: 1597.

# Sessione Poster

Rue de Suresnes, N° 45.  
près l'Hydrothermie de Meudon

ANCIENNE MAISON BRUNEL

**PASQUIER JEUNE**  
SUCCESSION.

Conduit à domicile dans Paris

DE LAIT D'ANESSE ET DE CHEVRE

Paris, le 29 octobre 1862

Vendu à Monsieur Les	
Comte D. Cuy	
Casse de La Courbe	
pour par jour 9 fr 75	
au 26	
Edy de	



# Isolamento di batteri lattici ad attività probiotica nel latte di asina

**Filomena Nazzaro, Marilena Anastasio,  
Florinda Fratianni, e Pierangelo Orlando**

Istituto di Scienze dell'Alimentazione  
CNR, Via Roma, 52, 83100, Avellino  
EURECO S.p.A.  
European Environmental Company,  
Località La Fagianeria, 81015,  
Piana di Monte Verna, (CE)  
Istituto di Biochimica delle Proteine  
CNR, Via P. Castellino, 111, 80131 Napoli  
mena@isa.cnr.it

## INTRODUZIONE

Il latte d'asina è, per caratteristiche biochimiche ed organolettiche (contenuto in acidi grassi polinsaturi, rapporto calcio-fosforo e contenuto proteico totale) quello più simile a quello materno (Chiofalo et al., 2003). In particolare questo latte è molto ricco di lisozima, una glicosidasi in grado di idrolizzare il polisaccaride presente nella parete cellulare dei batteri. Diverse evidenze scientifiche ne hanno quindi definitivamente accertato l'importanza nutrizionale e salutistica. La concentrazione in lattosio, di cui è ricco questo prodotto, ha un positivo effetto sull'assorbimento intestinale di calcio in quanto nei bambini a differenza dagli adulti è abbondante l'enzima -galattosidasi che consente l'idrolisi del lattosio a glucosio e galattosio. Anche dopo lo svezzamento, nell'ambito di una dieta bilanciata, il latte d'asina favorisce la mineralizzazione delle ossa e, può costituire un importante supporto nutrizionale in quei bambini refrattari al latte bovino, coadiuvando la formazione di un completo ed efficace sistema immunitario. Nei soggetti in età geriatrica in assenza di problemi legati all'intolleranza al lattosio, il latte d'asina può esplicare effetti positivi nella terapia dell'aterosclerosi, nel recupero degli infartuati cardiaci, nei casi di senescenza precoce, nelle diete ipocolesterolemiche (Polidori, 1994; Dell'Orto et al., 1993; Carroccio et al., 2000; Chiofalo et al., 2001; Salimei et al., 2002, 2004). Per tale alimento, quindi, si può parlare, a ragione, di alimento funzionale. Da diversi anni, per molti prodotti lattiero caseari sono state dimostrate le intrinseche proprietà funzionali, poiché essi sono ca-

pacì di influenzare beneficamente l'organismo umano; tali proprietà sono dovute anche alla presenza, nella loro composizione, di microrganismi probiotici -generalmente appartenenti ai generi *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Shah, 2000)- i quali, secondo il rapporto ufficiale FAO/WHO del 2001, sono "organismi viventi che, se somministrati in adeguate quantità, sono in grado di apportare un beneficio alla salute dell'organismo ospite". Il ruolo esercitato dai probiotici sulla salute umana ha acquistato grande rilevanza, sia a livello scientifico che industriale, determinando un sensibile incremento nella richiesta, e quindi nella produzione e nel consumo, di prodotti capaci di esplicare effetti positivi sulla salute dell'organismo ospite. I probiotici sono microrganismi resistenti all'azione degli acidi gastrici e dei sali biliari, che incontrano lungo il tragitto gastrointestinale; hanno la capacità di aderire alla mucosa intestinale e di colonizzarla, mantenendosi così numericamente dominanti rispetto ai microrganismi patogeni o indesiderati. Essi, inoltre, sono in grado di potenziare le difese immunitarie dell'organismo ospite, a livello sistemico e mucosale, e producono metaboliti ad effetto trofico sull'epitelio intestinale (es. butirrato) o inibente sulla crescita dei microrganismi patogeni (es. batteriocine); infine, tra le altre proprietà benefiche dei probiotici, vale ricordare la capacità di migliorare il metabolismo del colesterolo, e di crescere nel latte o in altri alimenti fermentati. Scopo del presente lavoro, attualmente in fase di svolgimento, è quello di isolare ed identificare, nel latte d'asina crudo, specie microbiche dotate di attività probiotica. Lo studio è stato effettuato, in particolare, isolando ceppi di batteri lattici in possesso di una buona capacità di sopravvivenza a condizioni quali la resistenza ai sali biliari ed ai succhi gastrici presenti nel percorso gastrointestinale. Tali ceppi sono stati identificati, a livello di specie, con approccio biochimico e molecolare.

## Materiali e metodi

Il latte di asina è stato prelevato presso un'azienda agricola con allevamenti biologici del comprensorio Salernitano (Azienda Rocco) e subito utilizzato per le indagini microbiologiche. Queste ultime sono

state effettuate sul prodotto diluito in soluzione fisiologica sterile (1:10 v/v). Le diluizioni seriali sono state piastrate su MRS agar (OXOID) ed incubate a 37°C per 48 ore in condizioni di anaerobiosi (ANAEROGEN, OXOID). Dopo incubazione, da ogni piastra sono state prelevate singole colonie, per un totale di 150. Ogni colonia è stata inoculata in MRS broth a 37°C per 24 ore, e conservata a -20°C in presenza di glicerolo sterile (150 ml/l) come agente crio-protettivo. Le “working cultures” sono state preparate mediante 3 passaggi successivi di crescita. Per ogni coltura sono state valutate alcune caratteristiche di probioticità. In particolare è stata valutata la resistenza ai sali biliari ed a condizioni di pH acido, che mimano *in vitro* alcune situazioni che i microrganismi incontrano nell'apparato gastrointestinale umano. La resistenza al pH acido è stata valutata con un simulato di succo gastrico, secondo Charteris *et al* (1988): 1 ml di coltura microbica, preventivamente lavata in soluzione fisiologica sterile, è stato mescolato con 5 ml di MRS contenente 3 g/l di pepsina, pH 2.0. La resistenza ai sali biliari è stata determinata secondo De Giulio *et al* (2005), aggiungendo 1 ml di coltura microbica, preventivamente lavata in soluzione fisiologica sterile, a 5 ml di MRS + sali biliari (concentrazione finale 0.5 %). Da ogni coltura sono stati prelevati, dopo 3 ore di incubazione a 37°C, 100 l di sospensione, diluita serialmente in soluzione fisiologica, che sono stati piastrati su MRS agar ed incubati in condizioni anaerobiche a 37°C per 48 ore. Le stesse colture non trattate sono state utilizzate come controllo negativo.

#### **Identificazione delle colture probiotiche.**

Le colture che hanno dato le risposte migliori in termini di resistenza ai sali biliari ed al simulato di succo gastrico, sono state poi conservate ed identificate. I test biochimici per l'identificazione a livello di specie sono stati effettuati usando il sistema API 50 CH con medium API 50 CHL secondo le istruzioni della casa produttrice (API System BioMerieux, France); le gallerie API sono state lette dopo 24 e 48 ore di incubazione a 30°C; i profili metabolici sono stati analizzati con software APILAB V3.3.3. Il DNA dei cloni è stato estratto e purificato mediante microcolonna (QIAGEN) e quantificato spettrofotometricamente. L'analisi FINGER-PRINT (RADP) stata realizzata amplificando, mediante PCR, i DNAs dei cloni ed utilizzando i “primer arbitrari” OPR 2 e OPR 13 singolarmente. Gli amplimeri sono stati se-

parati ed analizzati mediante elettroforesi su microchip (DNA 7500, Agilent, **figura 1**) utilizzando lo strumento 2100 Bioanalyzer (Agilent) equipaggiato con software 2100 EXPERT<sup>R</sup> (Agilent). I dati sono presentati sotto forma di elettroferogrammi.

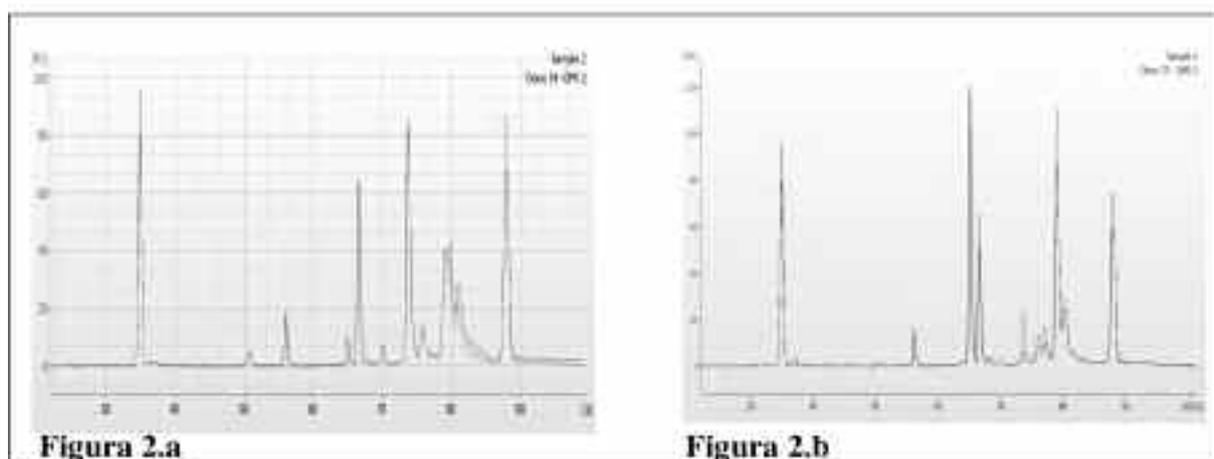
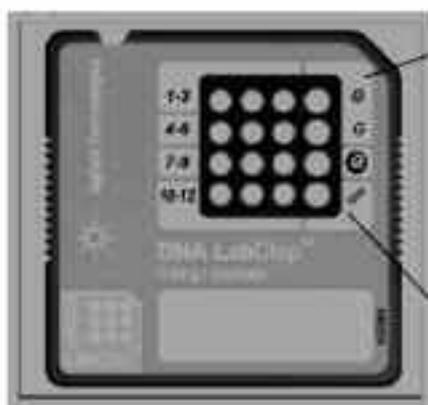
#### **RISULTATI**

Le prove di probioticità hanno dato, per alcuni cloni, risultati molto incoraggianti, con percentuali di resistenza ai sali biliari di circa il 70% e di resistenza al simulato di succo gastrico di circa il 70-75%, rispetto al controllo (posto al 100%). Nelle condizioni di simultaneità di trattamento (simulato di succo gastrico, pH 2.0, + sali biliari), alcuni dei cloni hanno dimostrato una notevole resistenza, facendo registrare un buon numero di UFC/ml rispetto al controllo (dati non mostrati). Lo studio biochimico di fermentazione degli zuccheri, effettuato con sistema API, ha permesso una buona caratterizzazione fenotipica di alcuni cloni isolati come probiotici. Tali risultati, incrociati con i profili Finger-print del DNA ci hanno consentito di differenziare l'appartenenza dei vari cloni, individuando per 2 dei cloni microbici l'appartenenza alla specie *Lactobacillus brevis* (sino all'87.6% di identificazione con sistema API, **Figura 2.a**) e per altri 2 cloni l'appartenenza alla specie *Lactobacillus plantarum* (sino al 99.5% di identificazione con sistema API, **Figura 2.b**). L'isolamento di batteri lattici con proprietà probiotiche in un prodotto ancora poco valorizzato come il latte d'asina, rappresenta un risultato indubbiamente incoraggiante per il proseguimento dell'attività di ricerca, rivolta alla completa identificazione dei cloni isolati con ulteriori metodologie di caratterizzazione molecolare. La presenza di probiotici nel latte d'asina può costituire, quindi, un presupposto interessante sia dal punto di vista salutistico sia dal punto di vista applicativo; Oltre all'utilizzo dei probiotici isolati come starter fermentativi per produzioni industriali diverse, è possibile ipotizzare l'utilizzo di tali starter per la formulazione di yogurt e di prodotti lattiero caseari a base di latte d'asina. La fermentazione con ceppi probiotici selezionati, presenti in natura nell'alimento crudo, potrebbe avere effetti positivi sulle proprietà organolettiche e di consistenza del prodotto finale.

**Tabella 1 . Composizione del latte d'asina e del latte materno**

<b>Latte d'asina</b>	<b>Latte materno</b>
Acqua: 81.10 %	88.30 %
Grasso: 0.28 %	3.50 %
Ceneri: 0.32 %	0.2 %
Lattosio 6.73 %	6.50 %
Proteine 1.63 %	1.50 %

**Figura 1 Schema di un DNA LabChip (Agilent Technologies®)**



**Figura 2 a.** Elettroferogramma di 2 cloni con attività metabolica presunta di *L. brevis*

**Figura 2 b.** Elettroferogramma di 2 cloni con attività metabolica presunta di *L. plantarum*

## BIBLIOGRAFIA

A. Carroccio, F. Cavataio, G. Montaldo, D. D'Amico, L. Alabrese, and G. Iacono. Intolerance to hydrolysed cow's milk proteins in infants: clinical characteristics and dietary treatments. *Clin. Exp. Allergy*, 30, 1597-1603, 2000.

W.P. Charteris, P.M. Kelly, L. Morelli, J.K. Collins. Development and application of an *in vitro* methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *J Appl Microbiol*, 84,759-768,1998.

B. Chiofalo, E. Salimei. Ass's milk: exploitation of an alimentary resource. Convegno "Sistema qualità, Tutela ambientale e sviluppo economico" Atti. 26, 2001.

B. Chiofalo, E. Salimei e L. Chiofalo: Acidi grassi del latte d'asina: proprietà bio-nutrizionali ed extranutrizionali. *Large Animals Review*, anno 9, numero 5, 1-6, 2003

B. De Giulio, P. Orlando, G. Barba, R. Coppola, M. De Rosa, A. Sada, P.P. De Prisco and F. Nazzaro: use of alginate and cryo-protective sugars to improve the viability of lactic acid bacteria after freezing and freeze drying. *World J Microbiol Biotechnol*, 21, 739-746, 2005.

V. Dell'Orto, E. Salimei, V. Bontempo, F. Fantuz, P.M. Toppino, G. Contarini, Locci F., 1994. Dairy mares. milk : I. Yield and composition of milk and relation with some plasma metabolites. *J. Dairy Sci.* 77 (suppl. 1), 347

F. Polidori. Il latte dietetico. in "Simposio :Aspetti dietetici della produzione del latte, un alimento antico proiettato verso il futuro". Torino, 1994

E. Salimei, R. Coppola, F. Fantuz, B. Chiofalo, M. Palazzo, R. Belli Blanes. Composizione e peculiarità del latte di asina, un alimento per la prima infanzia. 4° Convegno: Nuove acquisizioni in materia di Ippologia. Atti. 81-88, 2002.

E. Salimei, F. Fantuz, R. Coppola, B. Chiofalo, P. Polidori, G. Varisco, 2004. Composition and characteristics of ass.s milk. *Anim. Res.*, 53, 67-78.

N.P. Shah. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *J. Dairy Sci.* 83, 894-907, 2000.