



uniss

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

DIPARTIMENTO DI MEDICINA VETERINARIA

CORSO DI DOTTORATO IN SCIENZE VETERINARIE

INDIRIZZO:

CICLO: XXXII

Coordinatore del Corso Prof.ssa Fiammetta Berlinguer

Sieroprevalenze di CAEV, MAP e CpHV1 in capre allevate in Sardegna e loro effetti sulle caratteristiche del latte

Docente guida:

prof. Giuseppe Massimo VACCA

Co-Tutor:

dott.ssa Nicoletta PONTI

Tesi di:

dott. Carlo Emanuele PILO

Anno Accademico 2018-2019

Sommario

<i>RIASSUNTO</i>	1
<i>ABSTRACT</i>	2
<i>PATOLOGIE</i>	3
Importanza della prevenzione	3
Artrite Encefalite virale caprina.....	4
Epidemiologia.....	4
Patogenesi e sintomatologia.....	5
Diagnosi.....	7
Controllo e trattamento.....	8
Paratubercolosi.....	9
Introduzione.....	9
Epidemiologia.....	9
Patogenesi e sintomatologia.....	10
Diagnosi.....	12
Controllo e trattamento.....	14
Herpesvirus Caprino di tipo 1	14

Introduzione.....	14
Epidemiologia.....	15
Patogenesi e sintomatologia.....	16
Diagnosi.....	17
Controllo e trattamento.....	18
Effetti delle patologie sulle produzioni.....	19
CAEV.....	19
Paratubercolosi.....	22
CpHV1.....	23
<i>MATERIALI E METODI.....</i>	<i>25</i>
Lattodinamografia.....	27
Nanocaseificazione.....	29
Valutazione dello stato sanitario.....	31
Procedura ELISA per la ricerca degli anticorpi verso CAEV.....	33
Procedura ELISA per il rilevamento degli anticorpi verso MAP.....	34
Procedura Sieroneutralizzazione 9VI/07.....	39
Elaborazioni statistiche.....	44

<i>RISULTATI</i>	45
Risultati sierologici per allevamento.....	45
Risultati sierologia individuale delle capre.....	46
Risultati sierologici per razza caprina.....	46
Risultati sierologici per ordine di parto.....	47
<i>QUALITÀ DEL LATTE</i>	48
Risultati delle analisi chimiche sui campioni del latte e della lattodinamografia.....	48
Confronto per razza della qualità del latte e delle caratteristiche coagulative.....	49
Risultati per ordine di parto	54
<i>PRODUZIONI E STATO SANITARIO</i>	55
<i>DISCUSSIONE</i>	57
Qualità in relazione alla razza, al management e all'ordine di parto	57
Qualità del latte in relazione allo stato sanitario.....	60
CAEV.....	60
MAP.....	61
CpHV1	63
<i>CONCLUSIONI</i>	64
<i>TABELLE</i>	65

<i>GRAFICI</i>	66
<i>BIBLIOGRAFIA</i>	83

Riassunto

L'obiettivo della presente tesi è indagare se la sieropositività alla CAE (artrite-encefalite caprina), alla PTB (paratubercolosi) e alla CpHV1 (herpesvirus caprino tipo 1), possa influenzare le caratteristiche coagulative del latte di capra e la sua resa in formaggio. La prova ha previsto il campionamento del latte e del siero di 1272 capre, distribuite in 35 aziende della Sardegna. Il latte è stato analizzato per i parametri chimici quali grasso, proteina, lattosio, pH, conta delle cellule somatiche e carica batterica totale. Il latte è stato inoltre sottoposto alla prova della lattodinamografia per i parametri classici (RTC, K₂₀, A₃₀) e quelli modellizzati, mentre su 560 campioni estratti in maniera casuale è stata eseguita la nanocaseificazione. Sui sieri sono stati ricercati gli anticorpi per le tre patologie con la tecnica ELISA per CAEV e PTB, e con la sieroneutralizzazione per CpHV1. I dati sono stati analizzati utilizzando un software statistico. I risultati ottenuti mostrano una ampia diffusione delle tre patologie con alte percentuali di prevalenza. Nonostante le produzioni siano in media tendenzialmente migliori nei soggetti negativi per CAEV, PTB e CpHV1, non si sono osservate associazioni statistiche significative, per cui la sieropositività non sembra influenzare negativamente la capacità di trasformazione del latte di capre affette da queste malattie. Il controllo di queste malattie in futuro sarà cruciale per permettere al settore caprino di espandersi.

Abstract

The aim of this thesis is to investigate whether seropositivity to CAE (caprine arthritis), PTB (paratuberculosis) and CpHV1 (goat herpesvirus type 1) may influence the coagulative characteristics of goat milk and its cheese yield. 1272 samples of milk and serum have been collected from goats distributed in 35 farms in Sardinia. The milk was analyzed for chemical parameters such as fat, protein, lactose, pH, somatic cell count and total bacterial load. The milk was also tested with the lactodynamography test for the classic parameters (RTC, K₂₀, A₃₀) and for the modeling parameters, while the nanocaseification was performed on 560 randomly extracted samples. Antibodies were investigated for the three pathologies with the ELISA technique for CAEV and PTB, and with serum neutralization for CpHV1. Data was analyzed using statistical software. The results obtained show a wide diffusion of the three pathologies with high prevalence rates. Although productions tend to be better on average in subjects with negative CAEV, PTB and CpHV1, no significant statistical associations have been observed, therefore seropositivity does not seem to negatively influence the capacity of cheesemaking milk of goats affected by these diseases. The control of these diseases in the future will be crucial.

Patologie

Importanza della prevenzione

Non ci sono dubbi sul fatto che le attività di prevenzione comportino sempre e comunque meno costi rispetto a dover porre rimedio ai danni causati da un evento indesiderato. Questo è vero in tutti i settori, ma in particolar modo nel mondo zootecnico, dove con spese minime di prevenzione si possono risparmiare grosse somme. Nel caso particolare di patologie diffuse e insidiose e silenziose quali, nell'allevamento caprino, l'artrite-encefalite virale (CAE), la paratubercolosi (PTB) e l'herpesvirus caprino (CpHV1), per le quali non esiste alcun presidio terapeutico, la prevenzione è l'unica arma a disposizione dei veterinari. Soprattutto nelle aziende collocate in aree povere e disagiate, dove il pascolo è povero, allocate perlopiù in montagna e caratterizzate da strutture di fortuna, quando insorgono queste malattie, le perdite possono diventare tali da mettere a rischio la stessa sopravvivenza dell'azienda. È quindi di fondamentale importanza proteggere questo comparto informando gli allevatori sui rischi e suggerendo loro l'applicazione di procedure igieniche e di management, utili ad impedire l'insorgere di problemi di varia natura. Considerando, inoltre, il sempre maggior interesse per i prodotti caprini e l'aumentata attenzione dell'opinione pubblica verso la protezione dell'ambiente, il benessere animale e la tutela della salute pubblica, un efficace sistema di prevenzione è avvertito dai consumatori come una garanzia di qualità.

Artrite Encefalite virale caprina

Introduzione.

L'Artrite Encefalite virale caprina è una malattia infettiva contagiosa della capra (Crespo H. 2016), (Brinkhof J.M. 2010), il cui agente eziologico CAEV (virus dell'artrite encefalite caprina) è inserito nel gruppo dei lentivirus dei piccoli ruminanti (SRLV, acronimo dell'inglese *Small Ruminant Lentivirus*). Gli SRLV appartengono al genere dei lentivirus, nome che deriva dal latino *lentus* per via del lungo tempo di incubazione (Blacklaws B.A. 2004), a sua volta incluso nella famiglia *retroviridae* (Mazzei M. 2013).

La caratteristica distintiva dei retrovirus è il loro ciclo replicativo, poiché il genoma monocatenario a RNA con polarità positiva viene integrato nel DNA della cellula ospite mediante l'intervento di un enzima virale chiamato retrotrascrittasi inversa (RT). Dopo l'integrazione, il genoma virale viene replicato durante il ciclo della mitosi cellulare, tramandandolo alle cellule figlie. Il DNA così integrato (chiamato provirus) servirà come stampo per la formazione degli RNA virali per la sintesi delle proteine necessarie per la replicazione (Ponti W. 2002).

Epidemiologia.

Una delle vie principali di introduzione di CAE in una nazione indenne è la movimentazione di animali vivi per scambi commerciali (Blacklaws B.A. 2004). A livello di allevamento, il consumo di latte o di colostro prodotto da madri infette è la maggiore fonte di infezione per i capretti (Barrero Domínguez B. 2017). Poiché la ghiandola mammaria è uno dei bersagli principali dell'agente patogeno (Mazzei M. 2013), questa via di trasmissione è una delle più

studiate e analizzate (Brinkhof J.M. 2010), (Highland M.A. 2017), (Gjerset B. 2009). Negli adulti CAEV si diffonde prevalentemente per contatto diretto (Barquero N. 2013), in particolare negli ambienti sovraffollati. Il virus, oltre che dalle secrezioni nasali (Peterhans E. 2004), è stato isolato anche nel seme dei becchi (Travassos C. 1998), perciò anche l'accoppiamento naturale è considerato un fattore di rischio (Barrero Domínguez B. 2017), anche se al momento non ci sono prove certe di trasmissione venerea. Gli SRLV non sono considerati contaminanti ambientali efficaci anche se resistenti a un range di temperature, pH e radiazioni UV tali da permettere loro di sopravvivere fuori dall'ospite (Blacklaws B.A. 2004), (Villoria M. 2013). Ultima via da considerare è la somministrazione accidentale iatrogena in quanto CAEV può essere trasmesso attraverso l'utilizzo di aghi infetti (Andreani E. 2004).

Gli SRLV sono diffusi in tutto il mondo in seguito allo scambio e alla movimentazione animale (Mazzei M. 2013) e, apparentemente, solo l'Islanda, la Nuova Zelanda e l'Australia sono indenni al 99% (Reina R. 2009). La situazione in Sardegna, dato l'alto numero di ovini e caprini presenti, è particolarmente favorevole alla propagazione degli SRLV e si stima che il 74% degli allevamenti caprini sia infetto, con una massiva diffusione del genotipo E (Reina 2010).

Patogenesi e sintomatologia

Una volta penetrato nell'organismo si osserva una fase viremica nella quale il virus invade i monociti, attraverso i quali raggiunge le sinovie e il sistema nervoso centrale. Il virus può replicare anche nelle cellule dendritiche (Santos B.P. 2017) e nelle cellule epiteliali della mammella (Mselli-Lakhal L. 1999). La risposta anticorpale è riscontrabile dai 21-35 giorni

post infezione (Andreani E. 2004), ma si sono osservate sier conversionsi tardive anche di due anni (Blacklaws B.A. 2004). Subito dopo l'infezione, il virus entra in una fase di latenza o bassa replicazione e la quantità di virus nel sangue e nelle secrezioni tende a essere molto bassa (Blacklaws B.A. 2004). Nonostante questa apparente scarsità numerica, il virus è in grado di trasmettersi di madre in figlio e perfino tra soggetti adulti. Una volta che si stabilisce l'infezione, il virus permane nel soggetto per tutta la durata della sua vita (Greenwood P.L. 1995).

I segni clinici della CAE compaiono dopo lungo periodo di incubazione anche di 3 anni (Arsenault J. 2003), e sono descritte due forme cliniche distinte a seconda che vengano colpiti i capretti o gli adulti. I capretti dai 2 ai 4 mesi di età sviluppano principalmente sintomatologia neurologica con incoordinazione progressiva, atassia o paresi agli arti posteriori che può durare da pochi giorni a diverse settimane. I soggetti colpiti rimangono in decubito laterale e alcuni possono anche presentare opistotono. Temperatura corporea, sensorio e appetito rimangono nella norma. Le forme acute sono costantemente letali ma sono stati registrati casi di sopravvivenza con esiti di atrofia muscolare negli arti (Andreani E. 2004). La seconda forma clinica colpisce in maggior misura gli adulti di oltre un anno di vita, ed è caratterizzata da artrite con conseguente difficoltà alla deambulazione e riluttanza al movimento determinata da infiltrati di cellule monocitarie di origine ematica che si accumulano nella membrana sinoviale. Le articolazioni maggiormente colpite sono la carpo metacarpica e la femoro-tibio-rotulea e, in alcuni casi, può esserci anche interesse vertebrale. Frequente è il coinvolgimento mammario che esita in mastite cronica e sclerosi, con perdita parziale o totale dell'attività secretoria (Kaba J. 2012), (Martins G.R. 2017). CAEV, inoltre, è causa di una lenta forma respiratoria che evolve in polmonite interstiziale con ottusità alla percussione,

dispnea e rantoli che favorisce le infezioni da microrganismi di irruzione secondaria che aggravano il quadro clinico (Minguijón E. 2015).

Diagnosi.

Le infezioni da lentivirus sono generalmente silenti e quindi molto difficili da diagnosticare solo con l'esame clinico. Nonostante siano stati messi a punto diversi metodi di laboratorio, al momento non esiste ancora un test “*gold standard*” poiché l'alta variabilità genetica/antigenica può influenzare la sensibilità dei test. La diagnosi si basa quindi oltre che sulla sintomatologia clinica (quando rilevabile), sui test di laboratorio e sulle lesioni anatomopatologiche (de Andrés X. 2013).

Le tecniche di laboratorio per la diagnosi diretta prevedono l'isolamento del virus dai leucociti circolanti o da campioni di tessuto, oppure l'amplificazione del materiale genetico virale tramite PCR (Polymerase Chain Reaction). Molto utili ed economici sono i test sierologici come l'immunodiffusione su gel di agar (AGID) ormai sostituito dalla più sensibile ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) (World Organization for Animal Health, Maedi-visna e Caprine arthritis/encephalitis , OIE - Chapter 2.7.3/4 2019). Considerando che le infezioni da lentivirus sono persistenti, il rilevamento degli anticorpi è un efficace strumento per identificare i portatori virali (de Andrés X. 2013). L'AGID è di semplice esecuzione ed è molto specifico ma occorre molta esperienza per interpretare i risultati, il test ELISA al contrario, oltre ad essere economico, può essere automatizzato, rendendolo quindi adeguato per screening di massa. Come test di conferma si utilizzano il

Western Blot (WB) e la Radioimmunoprecipitazione (RIPA). Il test ELISA è più sensibile e meno costoso rispetto alla PCR, tuttavia quest'ultima è in grado di rilevare i soggetti infetti prima della comparsa degli anticorpi (de Andres D. 2005). Spesso si utilizza un singolo metodo diagnostico per rilevare la presenza del virus che, data la sua eterogeneità, può influenzare negativamente la sensibilità del test e rendere vani gli sforzi per eradicare la malattia (de Andrés X. 2013). Una strategia suggerita è uno screening sul latte massale e, solo in caso di positività, un test su tutti i singoli capi (Brinkhof J.M. 2010).

Controllo e trattamento.

Purtroppo al momento non sono disponibili trattamenti efficaci o vaccinazioni autorizzate (Minguijón E. 2015), (Highland M.A. 2017), per cui l'unica strategia praticabile è l'adozione di misure igieniche che contrastino la diffusione della malattia (Reina R. 2009). Le pratiche consigliate sono l'isolamento dei capretti dalle madri e la loro alimentazione con colostro pastorizzato o altri sostitutivi come il latte vaccino (Minguijón E. 2015), l'identificazione e l'eliminazione degli animali infetti (Crespo H. 2016), (White S.N. 2013), e l'adozione di buone pratiche di allevamento e manageriali (Barrero Domínguez B. 2017). Tutte queste strategie comunque non sono sufficienti da sole ad eradicare la malattia e i ricercatori stanno tentando nuove strade, come lo sviluppo di vaccini moderni o la selezione genetica di animali resistenti, ma nonostante tutti gli sforzi e le risorse investite, i risultati ottenuti sono stati deludenti.

Paratubercolosi

Introduzione.

La paratubercolosi o Johne Disease (JD) è una malattia infettiva contagiosa cronica dei ruminanti caratterizzata da una enterite progressiva (Garcia A.B. 2015), (Beaver A. 2017). Fu descritta per la prima volta in Germania nel 1895 da H. A. Johne e da L. Frothingham, (Juste R.A. 2011) ma solo nel 1912 F. W. Twort riuscì ad identificare l'agente eziologico provocando la malattia sperimentale nel 1914. Dieci anni dopo la malattia fu riconosciuta anche nelle capre e, in seguito, ci furono segnalazioni anche in molte altre specie (Cocito C. 1994).

Gli ingenti danni che questo microrganismo provoca alle produzioni animali e il sospetto che la paratubercolosi possieda un potenziale zoonotico, rende l'eradicazione di questa malattia un obiettivo del prossimo futuro per la zootecnica mondiale (Hendrick S.H. 2005).

Il batterio responsabile della malattia è il *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (MAP) che prende il nome dal greco *mūces*, fungo e *bacterio*, bastoncello. I micobatteri sono sottili bacilli di piccole dimensioni, circa 1 µm x 0,5 µm, immobili, asporigeni e aerobi (Cocito C. 1994).

Epidemiologia.

La paratubercolosi è diffusa in tutto il mondo e molti Paesi hanno adottato misure di controllo per contrastarla, ma alla specie caprina è stata dedicata molta meno attenzione, forse per il fatto che questi animali sono allevati prevalentemente in aree marginali. In Canada in uno studio del 2011 la prevalenza stimata è del 35% nelle capre e del 48% nelle pecore (Bauman C. 2016). Negli allevamenti caprini francesi, la prevalenza apparente e quella reale stimate

erano rispettivamente del 55,2% e del 62,9%, mentre per singoli animali era 2,9% e 6,6% rispettivamente (Mercier P. 2010). Negli allevamenti ovini e caprini italiani la sieropositività rilevata nel 2018 era molto elevata, soprattutto in Puglia dove in oltre l'80% delle aziende caprine sono stati individuati animali infetti (Arrigoni N. 4 dicembre 2018).

I dati raccolti dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna indicano che anche negli allevamenti sardi la paratubercolosi è molto diffusa, risultando presente nel 56% delle aziende caprine (dati non pubblicati). MAP possiede un ampio spettro d'ospite e, oltre i ruminanti domestici, ha la capacità di infettare anche altre specie domestiche e selvatiche come conigli, cervi, antilopi, cammelli e predatori dei conigli. Il batterio replica anche nei cavalli e nei muli che diventano disseminatori della malattia (Cocito C. 1994), (Collins M.T. 2003). Gli animali giovani sono i più suscettibili all'infezione e si ritiene che il primo mese di vita sia il periodo più critico dal momento che il loro sistema immunitario non è ancora completamente sviluppato. I capretti si infettano attraverso il consumo di colostro o latte infetto oppure per via oro fecale come gli adulti (González J. 2005). MAP può, tuttavia, diffondersi anche per via aerogena e per via venerea (Uzoigwe J.C. 2007) Le infezioni intrauterine sembra avvengano solo in feti di animali in stadi avanzati di malattia. (Khol J.L. 2010). MAP si è dimostrato particolarmente resistente anche nell'ambiente ed è capace di sopravvivere in climi aridi o freddi, a pH elevati e a esposizione ai raggi UV. Ciò lo rende un contaminante ambientale molto efficace, potendo rimanere nel suolo fino a 47 mesi e fino a 48 settimane nell'acqua (Garcia A.B. 2015).

Patogenesi e sintomatologia.

Una volta penetrati per via orale, i micobatteri superano la mucosa intestinale presumibilmente attraversando le cellule M (Juste R.A. 2011), (Park H.T. 2016) e, raggiunto il tessuto connettivo, vengono fagocitati dai macrofagi nei quali replicano, impedendo la formazione del fagolisosoma e sopravvivendo alla degradazione cellulare (Redaelli G. 2002). Il periodo di incubazione è lungo ed irregolare (Mandelli G. 2008) e la malattia solitamente attraversa tre stadi clinici. Nel primo stadio il processo infettivo si sviluppa senza apprezzabile diffusione batterica e non si osserva nessun segno clinico. Si tratta di soggetti infetti generalmente giovani, clinicamente sani e non eliminatori di MAP, in quanto l'infezione è sotto controllo da parte del sistema immunitario. A questa segue la seconda fase caratterizzata da un aumento dell'escrezione senza tuttavia causare segni clinici rilevabili, o quando presenti, essi sono comunque molto aspecifici. I soggetti colpiti sono già in grado di eliminare MAP nell'ambiente e di infettare altri capi. Il terzo stadio (terminale) si manifesta con diarrea cronica, soprattutto nel bovino, e infezione conclamata generalizzata (Luini M. 2013). Nelle capre la diarrea è un reperto inusuale e quando si presenta è di tipo intermittente e solo negli stadi avanzati di malattia. I gravi danni intestinali conducono a emaciazione, anemia, edemi discrasici, diminuzione della produzione di latte e infertilità e si associa, in seguito, un progressivo e grave calo di peso corporeo con appetito conservato (Garcia A.B. 2015), (Collins M.T. 2003). L'intestino si assottiglia e le cellule epiteliali esfoliano nel lume scaricando con le feci un enorme numero di MAP (maggiore di 10^{12} per animale). Sono stati segnalati anche degli animali infetti chiamati "super escretori" (*super shedders*) che sono in grado di eliminare con le feci miliardi di MAP (Garcia A.B. 2015). Gli animali, infine, muoiono in stato cachettico e disidratati per banali complicazioni (González J. 2005). La

maggior parte degli animali infetti mostra segni clinici dai 2 ai 6 anni ma il range varia dai 4 ai 15 anni (Mandelli G. 2008).

Il quadro immunologico della paratubercolosi è molto simile alla lebbra umana, infatti, sono state osservate in entrambe queste micobatteriosi forme iperergiche e anergiche. Ai primi stadi di malattia, infatti, osserviamo una forte risposta cellulo-mediata (Th1) che limita la proliferazione del patogeno (fase iperergica). La risposta ai test cutanei che sfrutta l'ipersensibilità di tipo IV, similmente alle forme tubercolari, è positiva. La fase terminale ricorda invece lo stadio lepromatoso (Cocito C. 1994). Tra questi due estremi c'è una fase intermedia caratterizzata da un progressivo indebolimento della risposta cellulo-mediata e da un innalzamento del livello degli anticorpi nel siero (risposta Th2).

Diagnosi.

La diagnosi precoce è fondamentale per impedire la diffusione del patogeno, ma sfortunatamente la malattia ai primi stadi mostra sintomi molto vaghi. Considerando infine il lungo periodo di incubazione e che gli animali sono già infettanti in questa fase, appare evidente la difficoltà di arginare la malattia senza il supporto del laboratorio.

Negli strisci fecali, o in altri organi fissati in formalina, colorati con la tecnica di Ziehl-Neelsen, è possibile osservare MAP all'interno dei macrofagi, che appare come un bastoncino di colore viola nei citoplasmi delle cellule parassitate. Gli strisci fecali offrono risultati di tipo qualitativo e sono economici e relativamente veloci. D'altro canto, dobbiamo considerare l'elevata possibilità di falsi negativi poiché l'escrezione fecale è fluttuante (Bauman C. 2016), quindi il loro utilizzo può essere utilizzato come screening di massa

(Nielsen S. S. 2002). L'esame colturale è di sicuro la prova con la più alta specificità (100%) e con la maggiore sensibilità tra i test attualmente a disposizione (Belletti G. 2004), purtroppo i costi sono molto elevati per la necessità di personale altamente specializzato e di laboratori attrezzati. I tempi di attesa sono molto lunghi e vanno dalle 4 alle 16 settimane e fino a 10 mesi per i ceppi ovini (World Organization for Animal Health, Paratubercolosi, OIE - Chapter 2.01.15 2019). Per ovviare a queste problematiche si può ricorrere alla PCR che ha come obiettivo l'amplificazione della sequenza IS900 (Collins D.M. 1989). Attualmente la metodica PCR più utilizzata per la ricerca di MAP è la Real Time PCR (RtPCR), dotata, rispetto alla classica, di maggior sensibilità, elevata specificità, possibilità di quantificazione, analisi contemporanea di un maggior numero di campioni e gestione dei dati più facile e più veloce (Marchetti G. 2012). I test per rilevare la presenza di anticorpi nel siero più utilizzati sono l'immunodiffusione sul gel di agar, la fissazione del complemento (FdC) e il test ELISA. L'AGID fu uno dei primi test messi a punto per la diagnosi di JD ed è ancora utilizzata come test di conferma per la malattia clinica in capi bovini, ovini e caprini sospetti (World Organization for Animal Health, Paratubercolosi, OIE - Chapter 2.01.15 2019). La Fissazione del Complemento, a tutt'oggi sostituita dall'ELISA (Redaelli G. 2002), non è raccomandata come metodo routinario di diagnosi di massa, anche se funziona molto bene sul singolo animale. Molti paesi la richiedono prima di importare il bestiame, ma il suo grande limite è che non esiste un siero di riferimento standardizzato. L'ELISA al momento è il test che presenta maggiore sensibilità e specificità, oltre ad essere veloce e di semplice esecuzione (World Organization for Animal Health, Paratubercolosi, OIE - Chapter 2.01.15 2019). Il preadsorbimento dei sieri con *Mycobacterium phlei*, caratteristica comune ai vari kit ELISA in commercio, limita la possibilità di reazioni crociate con altri micobatteri eterologhi

migliorando notevolmente la specificità, che risulta essere superiore al 99% (Belletti G. 2004).

Controllo e trattamento.

Al momento non esiste una terapia efficace per la paratubercolosi e non esiste un vaccino registrato in Italia. Al fine di diminuire la circolazione virale di MAP è opportuno separare i capretti dalle madri e alimentarli con colostro certificato “MAP free”. Ideale sarebbe la duplicazione delle strutture e impedire il contatto tra animali sani e quelli malati (o di materiali che potrebbero essere contaminati), cosa impraticabile in alcune realtà (Bastida F. 2011). Sono stati messi a punto dei vaccini che però non offrono una protezione completa dalla malattia, la loro somministrazione potrebbe formare granulomi nel sito di inoculo e si potrebbe creare interferenza con la diagnosi di tubercolosi bovina e caprina. Tuttavia la vaccinazione ridurrebbe il numero dei casi clinici e l’escrezione fecale, il che garantirebbe agli animali un aumento della vita produttiva e della produzione del latte (Pozzato N. 2015). Sono inoltre in fase di studio nuove strategie per il controllo delle patologie lente che si orientano sulla stimolazione del sistema immunitario e sulla selezione di animali geneticamente resistenti (Cecchi F. 2017). I risultati sono incoraggianti ma saranno necessari ulteriori studi.

Herpesvirus Caprino di tipo 1

Introduzione.

L'Herpesvirus caprino di tipo 1 (CpHV-1) appartiene alla sottofamiglia degli *alphaherpesviruses* che contiene sette virus geneticamente correlati quali l'herpesvirus bovino 1 (BoHV-1) responsabile della Rinotracheite bovina (IBR), l'herpesvirus suino (SuHV 1) e herpesvirus bovino 5 (BvHV 5) (Montagnaro S. 2013). CpHV-1 stabilisce infezione latente per tutta la durata della vita dell'animale, installandosi nei neuroni sensitivi (il nome herpes deriva dal greco "*erpin*", che significa nascondersi). Il virus, in seguito a condizioni sfavorevoli per l'ospite, subisce periodiche riattivazioni uscendo dall'organismo per raggiungere nuovi soggetti sensibili (Silva M.L. 2013). La sua enorme diffusione, il fatto che spesso passa non diagnosticato e i danni che provoca alle produzioni, rende questo virus una seria minaccia al settore caprino.

Epidemiologia.

CpHV1 è diffuso in tutto il mondo ovunque sia presente il suo ospite (Marinaro M. 2012) (Camero M. 2017) (Donofrio G. 2013). Secondo alcuni autori la prevalenza mondiale sarebbe del 50% anche se, purtroppo, la malattia è molto sottostimata e spesso non viene segnalata. Il virus è presente in Nuova Zelanda, Australia (Piper K.L. 2008), USA (Uzal F.A. 2004) e Canada (Chénier S. 2004). In Brasile, in uno studio del 2010, l'89.1% delle greggi esaminate erano infette e dei 1034 sieri testati con la sieroneutralizzazione (SN) il 36,6% ha dato esito positivo (Silva M.L. 2013). Il primo isolamento in Europa fu in Svizzera, ma il virus è molto diffuso soprattutto in Francia (Suavet F. 2016), Grecia, Spagna e Italia (Guercio A. 1998). In Turchia sono state rinvenute positività sierologiche in 9 allevamenti sui 20 testati e, delle 546 capre prelevate, il 32,78% erano positive (Baydin M. O. 2017). I maggiori danni sembrano essere causati nei Paesi che si affacciano nel Mediterraneo, probabilmente il clima e l'alto

numero dei soggetti sensibili favorisce la diffusione del patogeno (Thiry J. 2007), (Schynts F. 2004). Il virus non è, comunque, un efficace contaminante ambientale e risulta labile a pH acido o alcalino, alle temperature di 33°C – 37°C e di 50°C -56°C, oltre che ai comuni solventi organici. La sua sopravvivenza in natura è legata alla trasmissione per contatto diretto (Scatozza F. 2004). La caratteristica principale degli herpesvirus è che stabiliscono l'infezione per tutta la durata della vita dell'ospite e il genoma virale permane sotto forma di episomi o plasmidi extracromosomici nelle cellule infettate. Condizioni sfavorevoli quali stress, immunodepressione, estro, gravidanza (Donofrio G. 2013), o altre malattie concomitanti possono causare periodiche riattivazioni e il virus viene escreto infettando altri individui suscettibili (Suavet F. 2016) (Chénier S. 2004). È anche possibile riattivare l'infezione sperimentalmente mediante somministrazione di cortisonici, ma non sempre si riesce a provocare la replicazione virale (Buonavoglia C. 1996).

Patogenesi e sintomatologia.

Attualmente la patogenesi rimane ancora oscura in alcuni suoi punti (Tempesta M. 2002). L'infezione inizia localmente nel punto di ingresso, che può essere generalmente l'apparato respiratorio o quello genitale (Thiry J. 2007). A seconda della sede di ingresso il virus si sposta nel ganglio nervoso di pertinenza, se dall'apparato genitale dopo una prima replicazione nella mucosa vaginale o prepuziale si sposta al ganglio sacrale (Suavet F. 2016), oppure nel trigemino qualora l'origine sia per via nasale (Montagnaro S. 2013). Una volta raggiunto il ganglio nervoso, il virus infetta i neuroni ma smette di replicare stabilendo la cosiddetta infezione latente (Marinaro M. 2012). L'escrezione genitale è sicuramente la via più importante al fine del mantenimento dell'infezione in natura (Thiry J. 2007).

CpHV-1 si comporta diversamente a seconda che infetti animali adulti o capretti (Scatozza F. 2004). Nei soggetti di una o 2 settimane fino a 4 mesi di vita, la sintomatologia è molto aggressiva e si manifesta con esordio rapido, disorresia, moderata dispnea, dolori addominali e diarrea. I capretti mostrano deperimento organico, febbre, congiuntivite, debolezza, scolo nasale e congiuntivale, con esito progressivo e letale generalmente dopo 4 giorni dall'esordio (Brown C. 2007). Negli adulti invece si sviluppa una forma genitale localizzata, caratterizzata da dolorose lesioni eritematose ed edematose, che evolvono in ulcere e vescicole guaribili in circa due settimane (Thiry J. 2007). Sono state descritte vulvovaginite (Camero M. 2017), balanopostite, (Suavet F. 2016), postite ulcerativa e aborto (Chénier S. 2004), (Elia G. 2008). In particolare, l'aborto si verifica generalmente durante la seconda metà della gravidanza (Bertolotti L. 2008). Sebbene CpHV-1 causi malattia solitamente subclinica possono tuttavia comparire anche altri sintomi clinici quali disordini respiratori, febbre e leucopenia (Silva M.L. 2013) (Brown C. 2007).

Diagnosi.

La diagnosi può essere eseguita sulla base dei sintomi clinici poiché, quando evidenti, sono piuttosto caratteristici. La conferma può essere eseguita mediante isolamento virale dallo scolo oculare o genitale. Si può tentare di isolare il virus da tessuti dei soggetti deceduti ma risulta molto difficile se le carcasse non sono conservate bene. L'isolamento del virus da feti abortiti purtroppo ha scarso successo (Scatozza F. 2004). Per la diagnosi diretta è stata messa a punto la Real Time PCR per amplificare il materiale genetico virale (Elia G. 2008).

Per quanto riguarda la diagnosi indiretta, gli anticorpi specifici vengono rilevati mediante l'utilizzo della Sieroneutralizzazione (SN) o dell'ELISA (Bertolotti L. 2008). La SN è

considerata il *gold test* per l'elevata sensibilità ma purtroppo risulta costosa ed è necessario disporre di laboratori attrezzati e personale formato. Uno dei maggiori problemi per quanto riguarda la sierologia è che le glicoproteine di superficie possono cross reagire con altri herpesvirus quali BHV-1, BHV-5, CerHV-1 and CerHV-2 (Patel J.R. 2008) poiché CpHV-1 è antigenicamente correlato con i virus della famiglia degli alphaherpesvirus (Schynts F. 2004).

Controllo e trattamento.

La malattia è molto difficile da controllare. Una volta infettati i soggetti rimangono portatori del virus tutta la vita ed eliminarli sarebbe una spesa inaccettabile per gli allevatori soprattutto per certe realtà e solo la vaccinazione potrebbe controllare la diffusione della malattia. Sono stati sperimentati dei vaccini ricombinanti sperimentali che possiedono buone prestazioni in termini di efficacia e sicurezza negli adulti (Thiry J. 2007), purtroppo ancora non è chiaro se la copertura vaccinale sia efficace anche nei capretti (Patel J.R. 2008). Al momento non esistono vaccini registrati in Italia. Come profilassi sanitaria si consiglia di introdurre in azienda solo animali sieronegativi e di impiegare per la monta solo becchi controllati. La disseminazione del virus può essere controllata attraverso la disinfezione dei locali e l'isolamento delle capre gestanti prima del parto. I capretti devono essere separati dal resto del gregge. Esistono, analogamente alla medicina umana, dei farmaci che contrastano la malattia clinica come l'aciclovir in associazione mizoribina (Camero M. 2017), ma i costi troppo elevati ne limitano l'utilizzo nelle capre.

Effetti delle patologie sulle produzioni

CAEV.

I danni economici causati da CAEV sono dovuti principalmente alla diminuzione della produzione del latte delle capre per via delle lesioni mammarie. Sono stati eseguiti numerosi studi per quantificare il danno prodotto e i risultati sono spesso discordanti. In diversi esperimenti non sono stati notati cali della prolificità, del peso o della mortalità dei capretti (Greenwood P.L. 1995), (Leitner G. 2010).

Greenwood, in uno studio effettuato in Australia in capre di razza Saanen nel 1992, non osservò differenza tra il numero di capretti partoriti tra capre sieropositive e sieronegative, e neanche differenze tra la lunghezza dei tempi di gestazione. Allo stesso modo non rilevò aumenti di mortalità neonatale ma il tasso di crescita dei capretti figli delle madri sieropositive era significativamente più basso. Per quanto riguarda gli effetti sulla produzione del latte, si sono registrati cali medi tra le capre multipare sieropositive di circa 88 kg, lattazione più corta di 21 giorni e il latte delle sieropositive era di qualità inferiore per contenuto in grasso e proteine (Greenwood P.L. 1995).

Leitner et al., in Israele, notarono un calo significativo della produzione di latte nelle capre sieropositive solo durante la prima lattazione, per poi uniformarsi alle sieronegative con la seconda. Non registrarono, invece, diminuzione del numero di capretti nati e del loro peso o aumenti percentuali di animali da riformare (Leitner G. 2010).

Kaba et al. (2012) in un lungo studio effettuato in Polonia non riscontrò nessuna riduzione sulla quantità, bensì un netto peggioramento del contenuto di grassi, proteina e lattosio (Kaba J. 2012).

In un altro studio condotto in Italia Turin et al (2005) rilevò invece che erano le capre sieropositive che tendenzialmente mostravano produzioni maggiori rispetto a quelle sieronegative, anche se non sembra esserci nessuna correlazione statistica tra i due eventi. Non registrò inoltre nessuna differenza in contenuto di lattosio tra i due gruppi, ma riportò un aumento della quantità di grasso nel latte delle sieropositive e un maggiore contenuto in proteine in quello delle sieronegative (Turin L. 2005).

In un esperimento condotto in Spagna nel 2002, Martínez Navalón et al. su 1890 capre di razza Murciano-Granadina, nel gruppo delle sieropositive registrò cali molto netti della quantità di latte prodotto, tanto che fu stimata una perdita di circa 1.400€ per lattazione (considerando un prezzo medio del latte di 0,54€/l). Non fu riportata, invece, nessuna differenza qualitativa (Martínez Navalón B. 2002).

In Norvegia invece Nord et al. nel 1997 (Nord K. 1997), su 1799 capre esaminate, non osservò alcun cambiamento né per quanto riguarda la quantità né per qualità del latte esaminato, risultati decisamente contrastanti con quelli ottenuti in Croazia nel 2017 dove Tariba et al. attestarono che tutti i parametri risultavano inferiori negli animali sieropositivi (Tariba B. 2017).

Per quanto riguarda infine la conta delle cellule somatiche in uno studio condotto in Polonia, i ricercatori non ne osservarono variazioni numeriche (Kaba J. 2012) mentre al contrario in

Spagna (2001), Sánchez et al. ne registrarono un leggero aumento (Sánchez A. 2001). Come evidenziato in Tabella 1, che riporta un confronto tra i vari studi, è evidente di quanto i risultati siano spesso discordanti, probabilmente a causa delle diverse tipologie di allevamento, razze esaminate, clima o management.

Paratubercolosi.

L'impatto economico della paratubercolosi è stato maggiormente studiato per l'allevamento del bovino da latte, comparto di maggior interesse economico. In questi animali la malattia determina una minore produzione di latte (McAloon C.G. 2016), una inferiore aspettativa di vita (dovuta alla riforma anticipata degli animali infetti), una diminuzione dell'efficienza della conversione del mangime in carne, calo della fertilità, aumento della suscettibilità ad altre malattie e deprezzamento delle carcasse al macello (Kudahl A.B. 2009). Da considerarsi anche le spese veterinarie e le spese relative allo smaltimento degli animali morti o soppressi, oltre alla perdita di animali altamente selezionati che determina un rallentamento del miglioramento genetico dell'azienda (Collins M.T. 2003) (Garcia A.B. 2015). In aggiunta alcuni paesi come Cina e Russia richiedono l'assenza di casi clinici da almeno 12 mesi per autorizzare l'importazione di prodotti a base di latte, mentre l'India richiede garanzie sull'efficacia dei processi tecnologici per l'eliminazione del MAP (Brenzoni L.G. 2015). Infine, occorre considerare la perdita per la mancata vendita dei prodotti lattiero caseari per la perdita di fiducia dei consumatori. Nei bovini della Gran Bretagna si è calcolata una spesa media annuale di circa 26.00£ per vacche da latte e 17.00£ per quelle da carne. Negli USA circa dai 22\$ ai 27\$ per vacca all'anno ma alcune stime lievitano anche fino a 100\$. Si pensa che il costo della malattia sia di circa 200-250 milioni di dollari all'anno (Park H.T. 2016). Altri autori stimano il calo di produzione di 1.87 Kg di latte per vacca al giorno (McAloon C.G. 2016). Una stima delle perdite causate dalla JD per anno/vacca nel comparto bovino è riportata in Tabella 2.

Anche negli ovini e nei caprini la progressione di *M. avium subsp. paratuberculosis* da infezione a malattia clinica determina pesanti perdite economiche, dovute a importanti cali di peso degli animali, macellazioni anticipate o mortalità in azienda, stimate anche del 20% annuo (Windsor P.A. 2015) (Sardaro R. 2017). I dati in letteratura sulle perdite economiche e sugli effetti sulla qualità del latte causati dall'infezione di MAP nel settore caprino sono molto scarsi.

CpHV1.

La malattia è responsabile di gravi perdite economiche per l'aborto che può avvenire anche nel 50% delle partorienti (Chénier S. 2004), la natimortalità e i disordini riproduttivi (Montagnaro S. 2013). Aspetto importante è sicuramente l'immunosoppressione che favorisce le infezioni secondarie (Pagnini U. 2005). I dati in nostro possesso sugli effetti dell'Herpesvirus caprino sono molto scarsi, poiché la malattia passa spesso non diagnosticata. Al momento non esistono piani di risanamento e la letteratura è carente (Patel J.R. 2008).

Pochissimo, infine, si sa sugli effetti che queste tre patologie possono avere sulle caratteristiche coagulative del latte di capra, e quali effetti possano avere quindi sulla capacità di trasformazione in formaggio. Alcuni studi sono stati eseguiti nel bovino, nei quali viene dimostrato un calo delle produzioni e della qualità del latte in caso di infezione a BoHV1 (Rola J.G. 2015).

Scopo del lavoro

Lo scopo della ricerca, oggetto della presente tesi di dottorato, è fornire un quadro della situazione sanitaria degli allevamenti caprini della Sardegna, riferita a tre tra le più importanti patologie. In considerazione della scarsa bibliografia sull'argomento, si ritiene interessante verificare le relazioni tra la sieropositività degli animali, le produzioni, le caratteristiche coagulative e le rese alla trasformazione del latte. Obiettivo secondario della ricerca è lo studio degli effetti genetici ed individuali quali la razza e l'ordine di parto.

Materiali e Metodi

La ricerca è stata condotta su 35 aziende caprine della Sardegna, individuate in collaborazione con le quattro Associazioni Provinciali ed Interprovinciali Allevatori della Sardegna, tra quelle che allevavano soggetti iscritti al Libro Genealogico delle rispettive razze. In ogni azienda si compilava una scheda nella quale si registravano altimetria, consistenza, management, razze allevate e si effettuava una anamnesi sanitaria. Nella maggior parte degli allevamenti visitati (23) veniva allevata una sola razza. Le aziende che praticavano la mungitura meccanica erano 18 mentre in 17 si mungeva manualmente. In 30 aziende si praticava la doppia mungitura giornaliera, mentre nelle restanti 5 solo quella del mattino. La conduzione era prevalentemente familiare (24) ed il management era classificato come moderno in 10 aziende, intermedio in 14 e tradizionale in 11. La classificazione del management era effettuata sempre dallo stesso operatore qualificato. Il maggior numero delle aziende (15) era collocata in pianura (sotto 200 metri di altitudine), 9 erano quelle situate in collina (tra i 200 e i 500 metri) e 11 in montagna (sopra i 500 metri). La consistenza era inferiore ai 100 capi in 11 aziende, tra i 100 e i 200 capi in 14 aziende e sopra i 200 capi in 10 allevamenti. I dati sono riportati in Tabella 3. In ciascuna azienda, tra quelle che allevavano soggetti iscritti al Libro Genealogico delle rispettive razze, in numero tale da consentire di ottenere almeno 200 soggetti per ciascuna delle razze prese in considerazione, sono state scelte 40 capre in lattazione con criterio casuale, clinicamente sane e in buono stato di nutrizione. Dopo aver raccolto i dati individuali (razza, età, data e ordine di parto) di ciascun animale, sono state misurate le produzioni della mungitura mattutina e prelevati i campioni di 200 ml latte in di provette FalconTM. Delle 1.272 capre, 221 erano della razza Saanen, 206

Camosciata delle Alpi, 210 Maltese, 210 Murciano-Granadina, 212 Sarda e 213 Sarda Primitiva. La composizione percentuale della popolazione è riportata nella Tabella 4. Le razze di ceppo alpino (Saanen e Camosciata) venivano allevate in modo prevalentemente intensivo o semi-intensivo, mentre le razze Mediterranee (Maltese, Murciano-Granadina, Sarda e Sarda Primitiva) erano allevate quasi esclusivamente in maniera estensiva o semi-estensiva. Le capre sono state suddivise in tre gruppi a seconda dell'ordine di parto. Del primo gruppo facevano parte 392 animali al primo e al secondo parto (31%), nel secondo gruppo sono state inserite 460 capre al terzo ed al quarto parto (36%), mentre le restanti 420 capre che avevano partorito oltre 5 volte venivano incluse nel terzo gruppo (33%). Nella Tabella 5 sono riportate la ripartizione per razza delle capre secondo l'ordine di parto.

Presso il Laboratorio Latte dell'Associazione Regionale Allevatori della Sardegna (Oristano) sui campioni di latte, sono state determinate le percentuali di grasso, di proteine e di lattosio, mediante spettrofotometro a raggi infrarossi (metodica standard 141C:2000 dell'IDF); il pH; l'indice crioscopico ottenuto mediante un crioscopio a termistori (metodo IDF 108:2002); il contenuto in cellule somatiche (CCS) valutato utilizzando uno strumento automatizzato (metodo IDF n. 148A:1995); il conteggio delle cellule microbiche totali (CMT) mediante Bacto-Scan della Foss Electric (metodo 358:2000 dell'IDF).

Sull'altra aliquota di latte, presso i laboratori del Dipartimento di Medicina Veterinaria, mediante Lattodinamografo Formagraph sono state rilevate le proprietà coagulative del latte.

Lattodinamografia

La lattodinamografia è una tecnica che sfrutta uno strumento (chiamato lattodinamografo) che consente di valutare le capacità coagulative del latte tramite l'utilizzo di quantitativi estremamente ridotti (10 ml). Il lattodinamografo è composto da una parte meccanica ed una software con tecnologia proprietaria. La componente meccanica è, a sua volta, composta di due unità: il lattodinamografo vero e proprio ed un termostato, in cui si posizionano i campioni per il preriscaldamento. La componente software è installata in un PC utilizzato esclusivamente per la lattodinamografia in grado di analizzare fino a 10 campioni per volta. Nella prima fase 10 ml di latte dei campioni da analizzare vengono inseriti all'interno dei pozzetti di un rack (10 ml per pozzetto per i 10 pozzetti del rack) che viene sistemato per 30 minuti nel termostato, che porta la temperatura del latte a 35°. Nella seconda viene addizionata una soluzione cagliante (200 µl di caglio standard commerciale) in ciascuno dei pozzetti ed il rack viene quindi posizionato su una piattaforma mobile all'interno del lattodinamografo. Il sistema è ad incastro, e alla chiusura del coperchio del lattodinamografo in ogni pozzetto viene inserito un pendolo. Una volta chiuso il lattodinamografo viene avviata l'analisi: ogni 15 secondi, fino 60 minuti. La piattaforma mobile si sposta lateralmente per poi riportarsi nella posizione di partenza e il pendolo registrerà la resistenza del contenuto dei pozzetti, inviando un segnale elettronico che il software elaborerà come una linea sullo schermo. Ciascun pozzetto verrà identificato da una sua linea di coagulazione. Nel momento in cui in un pozzetto si inizia a formare la cagliata il movimento del sistema fa in modo che il pendolo venga trascinato e che si registri una variazione nella linea di coagulazione del latte. La linea di coagulazione inizia quindi a modificarsi andando a definire una campana (vedi Grafico 1). La registrazione va avanti fino al termine della prova (Bittante G. 2015).

I parametri lattodinamografici “classici” che si ottengono sono:

- RCT (Rennet coagulation time) indica il tempo necessario per la formazione del coagulo dal momento dell’aggiunta della soluzione cagliante.
- K_{20} indica il tempo necessario affinché la misura della campana grafica che si ottiene a video raggiunga una larghezza di 20 millimetri.
- A_{30} indica la misura in millimetri della stessa campana dopo 30 minuti. I valori A_{45} ed A_{60} indicano la misura in millimetri della campana dopo rispettivamente 45 e 60 minuti.

Oltre ai parametri classici sono stati estratti i parametri “modellizzati” (Bittante G. 2013) (Cipolat-Gotet C. 2018) che, a differenza dei precedenti, non rappresentano misurazioni sul singolo punto rilevato a 30, 45 o 60 minuti, ma su una serie di punti (uno ogni 15 secondi) quindi permettono di acquisire al massimo tutte le informazioni fornite dal tracciato lattodinamografico. Il modello si basa sul modello matematico seguente

$$CF_t = CF_p \times (1 - e^{-K_{CF} \times (t - RCT_{eq})}) \times e^{-K_{SR} \times (t - RCT_{eq})}$$

- consistenza del coagulo (mm) al tempo t (CF_t);
- la forza potenziale asintotica del coagulo (CF_p) indipendente dalla durata dell'analisi e non legato al RCT;
- la velocità istantanea di rassodamento (K_{CF}), che descrive l’incremento della consistenza del coagulo verso il valore asintotico potenziale CF_p ;
- la velocità istantanea di sineresi (K_{SR}) che descrive la perdita di consistenza dovuta alla sineresi della cagliata;
- il tempo di coagulazione stimato dal tracciato (RCT_{eq}) che si distingue dal RCT per il fatto che viene stimato utilizzando tutti i dati disponibili;
- la forza massima realmente registrata dal coagulo (CF_{MAX})

- il tempo al quale questa viene raggiunta (T_{MAX}).

Nanocaseificazione

Per ciascuna azienda sono stati selezionati in maniera casuale 16 campioni dei 1272 prelievi eseguiti, su cui è stata eseguita la nanocaseificazione, per un totale di 560 campioni, rappresentativi delle 35 aziende. Sono state selezionate per la nanocaseificazione 99 capre Saanen, 98 Camosciate delle alpi, 89 capre di razza Murciano – Granadina, 104 capre Maltesi, 86 capre di razza Sarda e 84 di razza Sarda Primitiva. La procedura di nanocaseificazione è stata proposta da Cipolat-Gotet et al. (C.Cipolat-Gotet C. 2016) ed è stata replicata in ciascun animale per un totale di 1120.

La prova di nanocaseificazione è una tecnica innovativa, che sfrutta in parte anche la lattodinamografia classica, nella quale è possibile ottenere anche informazioni su quelli che sono gli effettivi recuperi proteici, di grasso e in generale di sostanza secca nei due prodotti principali (cagliata e siero) e quali sia l'apporto effettivo di nutrienti (ed energia) nel formaggio. Per la nanocaseificazione è stata realizzata una modifica strumentale alla componente meccanica del lattodinamografo, modificando i *rack* e passando all'utilizzo di provette di vetro della capacità di 9 ml al posto del pozzetto metallico da 10 ml. Tramite questa modifica è possibile rimuovere il singolo campione dal macchinario e procedere alla pesata di ciascuna provetta prima e dopo la prova, in modo da poter registrare non solo i tempi di coagulazione ma anche le rese in formaggio. La tecnica prevede tre fasi. La prima, simile alla lattodinamografia classica, differisce per i quantitativi di latte utilizzato (9 ml) e di soluzione cagliante (180 μ l di caglio). Tutte le provette vengono pesate, a vuoto e piene. I pesi delle provette-tare e delle provette piene vengono registrati in un foglio elettronico

predisposto per tutta la prova. Per ogni prova di nanocaseificazione vengono utilizzati 4 campioni di latte individuale analizzati in doppio per ottenere una più accurata stima di ripetibilità della prova, per un totale di 8 campioni di latte inseriti nel lattodinamografo (2 campioni individuali adiacenti nel rack). Questa prima prova dura 30 minuti e consente di registrare i valori di RCT, K_{20} ed A_{30} (i dati raccolti erano sovrapponibili e non sono stati utilizzati). Terminata questa prima parte le cagliate presenti nelle provette vengono rotte ed il rack viene immediatamente spostato in un termostato in cui si porta la temperatura interna delle provette a 55° . Dopo 15 minuti il rack viene tolto dal termostato, le cagliate presenti nelle provette vengono pressate e il rack viene nuovamente inserito nel termostato per altri 15 minuti. Al termine di questa seconda fase le provette vengono tolte dal rack e il loro contenuto svuotato in un sistema provetta, imbuto e filtro. All'interno della provetta viene raccolto il siero di ciascun campione, mentre il filtro trattiene la cagliata. Le cagliate vengono lasciate riposare per 15 minuti, dopo di che si procede alla pesatura della cagliata e del siero. I pesi registrati vengono inseriti nel foglio elettronico predisposto per la prova e vengono calcolate le rese in formaggio per ciascuno dei campioni. Tramite l'utilizzo di uno spettrofotometro viene inoltre verificato, all'interno del siero, quale sia il quantitativo della materia utile (grasso/proteine) e quindi il suo recupero nel formaggio. Questa prova è stata effettuata presso i laboratori del dipartimento DAFNAE dell'Università di Padova) con il macchinario "Milkoscan 6000". Tutti i dati sono stati registrati in fogli elettronici singoli con gli identificativi univoci di animali e giorno e luogo di campionamento.

La resa casearia (CY_{CURD}) viene calcolata come il rapporto percentuale tra il peso della cagliata e il peso del latte. La ritenzione dell'acqua nella cagliata (CY_{WATER}) viene calcolata come il rapporto tra il peso dell'acqua presente nella cagliata sul peso totale del latte. moltiplicato per 100.

La resa in sostanza secca (CY_{SOLIDS}) è invece calcolata con il rapporto tra il peso della sostanza secca presente nella cagliata sul peso totale del latte. Al fine di registrare dati con maggiore affidabilità statistica e avere la possibilità di ottenere un volume di siero sufficiente per l'analisi tramite spettrofotometro, tutte le osservazioni sono state eseguite in doppio. La proporzione dei componenti del latte recuperati nella cagliata (altrimenti persi nel siero) sono le percentuali di proteina, grasso e solidi calcolate come il rapporto del peso in grammi degli stessi nella cagliata per gli stessi componenti presenti nel latte, moltiplicati per 100 (Banks J.M. 2007). Il recupero percentuale di grasso nella cagliata (REC_{FAT}) è stato calcolato con il rapporto del grasso nella cagliata sul grasso totale del latte moltiplicato per 100. Il recupero di proteina nella cagliata (REC_{PROTEIN}) è stato calcolato con il rapporto della proteina presente nella cagliata sulla proteina totale del latte, moltiplicato per 100. Il recupero di sostanza secca nella cagliata (REC_{SOLIDS}) è stato calcolato con il rapporto della sostanza secca nella cagliata sulla sostanza secca totale del latte, anch'essa espressa in grammi. Il REC_{ENERGY} è un valore calcolato stimando l'energia del latte e della cagliata utilizzando l'equazione proposta dalla NRC (NRC 2007). Per ottenere una indicazione sulle produzioni giornaliere si opera moltiplicando i risultati in percentuale su indicati per il dMY (produzione giornaliera di latte) ottenuta sommando la quantità di latte munta al mattino con quella ottenuta dalla mungitura della sera. Si ottengono così il dCY_{CURD} (resa casearia giornaliera), dCY_{SOLID} (resa giornaliera di solidi) e dCY_{WATER} (ritenzione giornaliera di acqua/siero).

Valutazione dello stato sanitario

Di ciascun soggetto, veniva effettuata la visita clinica, e una volta appurata l'assenza di sintomi clinici, veniva prelevato un campione di sangue in provette Vacutainer® da 10 ml.

Una volta estratto il siero, i campioni venivano inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna (IZS) di Sassari, dove sono state condotte le analisi per evidenziare i tassi anticorpali diretti verso la Paratubercolosi, l'Artrite Encefalite Virale dei caprini e l'Herpes Virus Caprino 1 (CpHV1). Per quest'ultimo è stato eseguito il test di sieroneutralizzazione 9VI/07, mentre per CAEV e PTB è stato utilizzato il test ELISA. Le metodiche delle prove sono sotto riportate e descritte.

Procedura ELISA per la ricerca degli anticorpi verso CAEV

Per rilevare la presenza di anticorpi contro i lentivirus nei sieri delle capre è stato utilizzato il kit eradikit® (www.in3diagnostic.com) prodotto dalla IN3 diagnostic versione protocollo: 2.0.0.

La procedura utilizzata è quella descritta nel manuale di istruzioni fornito dalla casa produttrice.

1. Dispensare 95µl di tampone di diluizione siero in ogni pozzetto.
2. Aggiungere 5 µl di siero di controllo negativo (C neg) nei pozzetti A1 e B1, 5 µl di siero di controllo positivo (C pos) nei pozzetti C1 e D1 e 5 µl di ogni siero in esame.
3. Incubare la piastra per 60 minuti a 37° C.
4. Diluire il tampone di lavaggio 1:20 in acqua pura.
5. Lavare la piastra 3 volte con 300 µl per pozzetto.
6. Diluire al momento il coniugato concentrato 10X nel tampone di diluizione coniugato.
7. Aggiungere 100 µl di coniugato diluito in ogni pozzetto.
8. Incubare la piastra per 60 minuti a 37°C.
9. Lavare come al punto 5.
10. Aggiungere 100 µl di substrato in ogni pozzetto.
11. Incubare la piastra a temperatura ambiente per 15-20 minuti.
12. Bloccare la reazione colorimetrica aggiungendo 100 µl di soluzione STOP in ogni pozzetto.
13. Leggere la piastra a 405nm.

Calcoli ed interpretazione

Si calcola la percentuale di reattività di ogni siero applicando la seguente formula

$$\frac{OD_{campione} - OD_{CNeg}}{OD_{CPos} - OD_{CNeg}} \times 100$$

I sieri con reattività ≥ 40 % sono considerati positivi

Procedura ELISA per il rilevamento degli anticorpi verso MAP

Per rivelare la presenza di anticorpi contro MAP sono stati utilizzati due test, uno di screening e uno di conferma qualora i campioni fossero risultati positivi allo screening.

Paratubercolosi screening test

Il test utilizzato per la diagnosi sierologica della paratubercolosi delle capre è prodotto dalla ID.vet innovative Diagnostics commercializzato con il nome di ID Screen® Paratuberculosis Indirect Screening test. Si tratta di un test ELISA progettato per la ricerca di anticorpi diretti contro il *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*. I micropozzetti sono adesi con l'estratto purificato del MAP, e per evitare contaminazione crociate, i campioni da testare vengono preincubati in un substrato neutralizzante contenente *Mycobacterium phlei* prima di essere trasferiti in piastra. Se sono presenti anticorpi anti-MAP, questi formano un complesso antigene anticorpo contro gli epitopi di MAP, che reagiranno a loro volta con un coniugato anti-ruminanti IgG- perossidasi formando così il complesso HRP (antigene-anticorpo-coniugato). Dopo il lavaggio viene aggiunto un substrato che farà virare il colore del pozzetto

al blu qualora la reazione sia positiva e che diventerà gialla una volta aggiunta la soluzione di STOP.

Procedura screening

1. In una micro piastra di pre-diluizione di 96 pozzetti, i campioni sono diluiti 1:12 procedendo come segue:
 - a. 10 µl di controllo negativo nei pozzetti A1 e B1.
 - b. 10 µl di controllo positivo nei pozzetti C1 e D1.
 - c. 10 µl di ogni campione nei pozzetti rimanenti.
 - d. 110 µl di soluzione di diluizione in ogni pozzetto.
2. Incubare tra 5 e 45 minuti a 21° C.
3. Trasferire 100 µl di controlli e campione dopo neutralizzazione nelle micro piastre ELISA adese.
4. Incubare per 45 minuti a 21°C.
5. Lavare il pozzetto 3 volte con circa 300 µl di soluzione di lavaggio.
6. Preparare il coniugato diluendo il coniugato concentrato 1:10.
7. Distribuire 100 µl di Coniugato diluito in ogni pozzetto.
8. Incubare per 30 minuti a 21° C.
9. Lavare il pozzetto 3 volte con circa 300 µl di soluzione di lavaggio.
10. Distribuire 100 µl di soluzione substrato in ogni pozzetto.
11. Incubare per 15 minuti a 21°C.
12. Distribuire 100 µl di soluzione di STOP in ogni pozzetto per fermare la reazione.
13. Leggere le densità ottiche a 450 nm.

Validazione

Il test è valido se il valore medio di densità ottica dei controlli positivi (DO_{CP}) è superiore a 0.350 e se il rapporto tra il medio dei controlli positivi (DO_{CP}) e il medio dei controlli negativi (DO_{CN}) è superiore a 3 ($DO_{CP} / DO_{CN} > 3$).

Interpretazione

Per ogni campione, calcolare la percentuale S/P (S/P%) con la formula:

$$S/P\% = \frac{(DO_{campione} - DO_{CN})}{(DO_{CP} - DO_{CN})} \times 100$$

I campioni che presentano una S/P %

- ≤ 60 % sono considerati negativi.
- Superiore al 60 ma inferiore al 70% sono considerati dubbi.
- Superiore o uguale al 70 % sono considerati positivi.

Paratuberculosis confirmation test

Il test utilizzato per la conferma dei casi positivi al test di screening è il ID Screen® Paratuberculosis Indirect e viene prodotto dalla ID.vet innovative diagnostic.

Procedura conferma

1. In una micro piastra di pre-diluizione di 96 pozzetti, i campioni sono diluiti 1:12 procedendo come segue:
 - a. 20 μ l di controllo negativo nei pozzetti A1 e B1.
 - b. 20 μ l di controllo positivo nei pozzetti C1 e D1.
 - c. 20 μ l di ogni campione nei pozzetti rimanenti. I campioni sono distribuiti in doppio (micropozzetti pari e micropozzetti dispari).
 - d. 220 μ l di soluzione di diluizione in ogni pozzetto.
2. Incubare tra 5 e 45 minuti a 21° C.
3. Trasferire 100 μ l di controlli e campione dopo neutralizzazione nelle micro piastre ELISA adese in micropozzetti pari e dispari.
4. Incubare per 45 minuti a 21°C.
5. Lavare il pozzetto 3 volte con circa 300 μ l di soluzione di lavaggio.

6. Preparare il coniugato diluendo il coniugato concentrato 1:10.
7. Distribuire 100 µl di Coniugato diluito in ogni pozzetto.
8. Incubare per 30 minuti a 21° C.
9. Lavare il pozzetto 3 volte con circa 300 µl di soluzione di lavaggio.
10. Distribuire 100 µl di soluzione substrato in ogni pozzetto.
11. Incubare per 15 minuti a 21°C.
12. Distribuire 100 µl di soluzione di STOP in ogni pozzetto per fermare la reazione.
13. Leggere le densità ottiche a 450 nm.

Interpretazione

La validazione e interpretazione di ogni campione sono calcolate con la DO netta, ottenuta con la seguente formula:

$$DO\ netta = DO\ Col\ onnapari - DO\ col\ onnadi\ spari$$

Il test è valido se la DO netta dei controlli positivi è > 0.350 e il rapporto tra valore medio di densità ottica dei controlli positivi (DO netto CP) e dei controlli negativi (D=netto CN) è superiore a 3.5.

$$DO_{netto\ CP} / DO_{netto\ CN} > 3.5$$

Per interpretare il risultato si applica la seguente formula

$$S/P\% = DO\ netta\ campione / DO\ netta\ CP \times 100$$

I campioni che presentano una S/P %

- ≤ 60 % sono considerati negativi.
- Superiore al 60 ma inferiore al 70% sono considerati dubbi.
- Superiore o uguale al 70 % sono considerati positivi.

Procedura Sieroneutralizzazione 9VI/07

Quando un virus viene posto a contatto con il siero di un animale immune, perde in gran parte o del tutto il suo potere. Gli anticorpi specifici infatti neutralizzano il virus impedendogli l'adsorbimento nella cellula ospite. Questo principio viene sfruttato nella sieroneutralizzazione. La sieroneutralizzazione è una reazione sierologica in cui un siero immune o presunto tale viene cimentato con un antigene dotato di attività biologica specifica e nella quale la formazione dell'immunocomplesso è evidenziata dalla perdita dell'attività biologica dell'antigene. Nelle reazioni di neutralizzazione il titolo di anticorpi neutralizzanti nel siero può essere valutato saggiando diluizioni di siero in esame con quantità standard di virus infettante, 100 dosi infettanti 50% colture di tessuto (100 TCID₅₀). La rilevazione della infettività residua si realizza sul substrato biologico più idoneo (coltura cellulare). Titolo finale degli anticorpi neutralizzanti viene considerata la più alta diluizione del siero ancora capace di prevenire i fenomeni legati alle proprietà infettanti del virus. Nel caso in cui il siero non risulti immune l'antigene ha la possibilità di agire sul substrato biologico inducendo evidenti cambiamenti della morfologia cellulare (effetto citopatico), la cellula ospite va incontro a morte e si ha la liberazione di una notevole quantità di virus (Poli G 2002).

Reazioni

Se il siero di un animale immune nei confronti di un determinato antigene viene mescolato in vitro con l'antigene corrispondente, gli anticorpi presenti nel siero reagiscono con l'antigene dando luogo ad un immunocomplesso.

Interferenze

Nei sieri in esame possono essere presenti fattori di citotossicità che determinano alterazioni del substrato cellulare da non confondere con l'effetto citopatico da virus, in questo caso il campione viene definito citotossico e deve essere prelevato un secondo campione.

Procedimento

1. Centrifugare i campioni di sangue prelevati sterilmente per 15 minuti a 1200xg. I sieri vengono separati sterilmente ed inattivati a 56°C per 30 minuti. I sieri inattivati possono essere conservati in frigo a 4°C per 48 ore o in congelatore a -20°C ed esaminati successivamente previa ulteriore inattivazione per 10 minuti a 56°C. Successivamente vengono stoccati a -20°C per almeno 21 giorni in modo da valutare la sierconversione.
2. Preparazione della sospensione virale contenente 100 TCID₅₀/25 µl. La sospensione virale contenente 100 TCID₅₀/25 µl viene preparata diluendo il virus con Eagle MEM antibiotato (terreno minimo essenziale). Il titolo del virus è riportato sulla provetta e sul quaderno delle titolazioni virali.
3. Preparazione delle dosi virali di controllo: Dopo aver preparato la sospensione virale contenente 100 TCID₅₀ / 25 µl mediante la titolazione in base 10, fino a 0 TCID₅₀/25 µl. Si parte dalla concentrazione d'uso dell'antigene e, mediante le diluizioni in base 10, ottenere le 10,1 e 0 TCID₅₀/25 µl.
4. Preparazione della sospensione di cellule MDBK contenente 2x10⁵ cellule/ml. Tripsinizzare le cellule a monostrato completo secondo la Istruzione 9VI I 0904.
5. Risospendere quindi le cellule in Eagle MEM antibiotato e addizionato del 10% di siero fetale bovino.
6. Riportare la disposizione dei sieri nelle piastre sul documento correlato schema di lavoro n.1a e la disposizione dei controlli sul modulo 1b. Aprire e contrassegnare, mediante pennarello indelebile un numero di piastre adeguato al numero di campioni da esaminare, indicando il numero progressivo, la data di esecuzione del test e la sigla

- SN CpHV1. Per ciascun siero sono previste due repliche di ciascuna diluizione in base 2 da $\frac{1}{2}$ a $\frac{1}{128}$, e un controllo della tossicità. In una piastra viene inserito un controllo cellule in almeno 6 pozzetti, un controllo delle dosi infettanti del virus 100,10,1 e 0 TCID₅₀, almeno 6 repliche per ciascuna dose.
7. Dispensare 25 µl di terreno Eagle MEM antibiotato in ciascun pozzetto della piastra da 96 pozzetti, 50 µl nei pozzetti riservati al controllo cellule.
 8. Dispensare 25 µl del primo siero in esame nel pozzetto 1 e 2 della fila A e della fila B, 25 µl del secondo siero in esame nel pozzetto 3 e 4 delle stesse file, 25 µl del terzo siero in esame nel pozzetto 5 e 6 delle stesse file, in ogni piastra 6 sieri.
 9. Diluire a raddoppio il siero trasferendo 25 µl dal secondo pozzetto ai successivi fino all'ottavo, file dalla B alla H, ed eliminando gli ultimi 25 µl. Riservare i pozzetti della fila A per il controllo di tossicità.
 10. Aggiungere 25 µl di sospensione virus contenente 100 TCID₅₀ ad ogni diluizione di siero, ad eccezione di quelle del controllo di tossicità del siero nelle quali si dispensano 25 µl di terreno Eagle MEM antibiotato, le diluizioni finali del siero risultano da $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{126}$.
 11. In piastra allestire i seguenti controlli:
 - a. Siero di lavoro positivo: effettuare una diluizione seriale in base 2 dalla colonna 2 alla 12, file A e B, riservare la colonna 1 file A e B per il controllo di tossicità.
 - b. Siero di lavoro negativo: effettuare una diluizione seriale in base 2 dalla colonna 2 alla 12, file C e D, riservare la colonna 1 file C e D per il controllo di tossicità.
 - c. Controllo virus dispensare 25 µl per pozzetto 6 repliche per ciascuna dose.
 - i. Nella fila E dalla colonna 1 alla 6 il controllo virus 100 dosi.
 - ii. Nella fila F dalla colonna 1 alla 6 il controllo 10 dosi.
 - iii. Nella fila G dalla colonna 1 alla 6 il controllo 1 dose.
 - iv. Nella fila H dalle colonne 1 alla 6 il controllo virus 0 dosi.
 - d. Controllo cellule: nelle file G ed H colonne dalla 7 alla 12 si dispensano 50 µl di Eagle MEM antibiotato e non viene dispensato il virus.

12. Chiudere le piastre con il coperchio ed incubare in termostato $37^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ $5\% \text{ CO}_2$, per 1 ora.
13. Togliere le piastre dal termostato, aggiungere $50 \mu\text{l}$ di cellule diluite in Eagle MEM antibiotato $10\% \text{ SFB}$ (siero fetale bovino) (2×10^5 cellule /ml), in ogni pozzetto contenente la miscela siero virus e relativi controlli. Agitare per almeno 30 secondi.
14. Incubare in termostato $37^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ $5\% \text{ CO}_2$, per 72 ore.

La lettura viene effettuata a 72 ore al microscopio invertito.

Validità del test

Il test è ritenuto valido quando:

- il controllo cellule è disposto in monostrato completo.
- il controllo virus presenta presenza di TCID_{50} da 30 a 300.
- il siero di lavoro positivo presenta un titolo compreso nell' intervallo atteso.
- il siero di lavoro negativo deve presentare un titolo $< 1/4$ non presenta ECP in tutti i pozzetti saggiati.
- I risultati vengono registrati in base alla produzione di effetto citopatico nelle colture inoculate. Il risultato della lettura viene riportato sugli schemi di lavoro 1a e 1b indicando la presenza (+) o assenza (-) di effetto citopatico.
- Una coltura indenne indica che la neutralizzazione del virus nella miscela originale virus-siero era completa, mentre la presenza di effetto citopatico indica una attività dovuta alla diluzione del siero oltre il suo punto neutralizzante finale.

Calcolo del titolo del virus

Il calcolo del titolo del virus si effettua con il metodo di Spearman/Kärber con la formula:

$$t i t o l o = 10^{(X - \frac{d}{2} + dxS)}$$

Dove:

- X = logaritmo assoluto della diluizione più alta del virus in cui tutte le repliche presentano ECP.
- d = differenza di logaritmo tra diluizioni successive.
- S = sommatoria dei rapporti di N di repliche con effetto/ N di repliche totali, calcolati tra X e la diluizione oltre la quale non c'è effetto.

Calcolo del titolo dei sieri

I risultati del test vengono espressi come il reciproco della diluizione di siero che ha neutralizzato il virus nel 50% dei pozzetti. Se il 50% dei pozzetti contenenti il siero diluito $\frac{1}{2}$ neutralizzano il virus il titolo è $\frac{1}{4}$, utilizzando per convenzione la diluizione finale. Se tutti i pozzetti contenenti il siero non diluito neutralizzano il virus il titolo letto sarà una diluizione $>\frac{1}{4}$ ma $\frac{1}{8}$, il titolo neutralizzante finale si ottiene aggiungendo alla diluizione $\frac{1}{4}$ il 50% della distanza tra le due diluizioni, in questo caso 2, pertanto la diluizione da attribuire al siero risulta $\frac{1}{6}$. Se tutti i pozzetti del siero diluito $\frac{1}{2}$ e il 50% di quelli della diluizione iniziale $\frac{1}{4}$ neutralizzano il virus, il titolo è $\frac{1}{8}$ utilizzando per convenzione la diluizione finale.

Per le successive diluizioni il calcolo si effettua nello stesso modo.

Elaborazioni statistiche.

I dati sono stati elaborati con differenti procedure dell'analisi della varianza e l'uso di software statistici quali SAS[®] (SAS institute Inc., Cary, NC) e MiniTAB[®] (2019, LLC).

Preliminarmente il contenuto in cellule somatiche (CCS), è stato trasformato in logaritmo (SCS) utilizzando la formula $[\log_2 (\text{SCC} \times 10^{-3}) + 3]$. La conta batterica totale (TBC) è stata trasformata nella conta batterica logaritmica (LBC) attraverso la formula $[\text{LBC} = \log_{10} (\text{conta batterica totale}/1000)]$.

Tramite il software SAS[®] (versione 9.3, SAS Inst. Inc., Cary, NC) è stata quindi progettata una procedura MIXED per l'analisi dei dati secondo il seguente modello:

$$Y_{efghij} = \mu + \text{Razza}_e + \text{Parto}_f + \text{Farm}_g + \text{CAEV}_h + \text{MAP}_i + \text{CpHV1}_j + e_{efghij}$$

in cui Y_{efghij} è la variabile analizzata, μ è la media generale, Razza_e è l'effetto fisso della Razza (e= 6 livelli: 1= Saanen, 2= Camosciata, 3= Murciano-Granadina, 4= Maltese, 5=Sarda e 6= Sarda Primitiva); Parto_f è l'effetto fisso dell'ordine di parto (f= 3 livelli: 1 = 1° e 2° parto, 2= 3° e 4° parto e 3= a partire dal 5° parto); Farm_g è l'effetto del management (g= 3 livelli 1= tradizionale, 2= intermedio e 3= moderno) = CAEV_h è l'effetto fisso della positività a CAEV (h= 2 livelli: 1= positivo, 2=negativo); MAP_i è l'effetto fisso della positività a MAP (i= 2 livelli: 1= positivo, 2=negativo); CpHV1_j è l'effetto fisso della positività a CpHV1 (l= 2 livelli: 1= positivo, 2=negativo); infine e_{efghij} è l'errore stimato. Infine, si è proceduto ad eseguire un test di Pearson per verificare le eventuali correlazioni tra la composizione, le proprietà coagulative del latte e le rese con la positività alle patologie prese in esame.

Risultati

Risultati sierologici per allevamento

I dati raccolti mostrano una ampia diffusione sul territorio della Sardegna delle tre patologie, con CAEV presente in quasi tutti gli allevamenti testati (91,43%). Le aziende con animali sieropositivi alla Paratubercolosi erano il 74%, mentre nel 49% circolava il CpHV1. Nel Grafico 2 è riportata la prevalenza apparente per le tre patologie per allevamento. Entrando nel dettaglio, nell'11% delle aziende si è riscontrata sieropositività solo per CAEV, nell'11% solo per MAP e nel 3% solo per CpHV1. Nella maggior parte delle aziende (34%) erano presenti positività sia per CAEV che per MAP, nel 14 % per CAEV e CpHV1 e nel 3% per MAP e CpHV1. Nel 20% delle aziende, inoltre, i test sierologici hanno dato esito positivo a tutte e tre le patologie. Solo in un'azienda sono risultati negativi tutti i sieri testati. I risultati sono riportati in Tabella 6.

La prevalenza media all'interno degli allevamenti per l'Artrite-Encefalite caprina era del 56%, con un range che andava dal 2% minimo, ad un massimo del 100%, situazione che si era potuta osservare in 2 aziende situate nel territorio della provincia di Nuoro. Per la Paratubercolosi la prevalenza media era del 22% con un range dal 2 al 70%, mentre la positività intra-allevamento del CpHV1 variava da 2,5% a 88,89%. Tutti i dati sono riportati in Tabella 7.

Risultati sierologia individuale delle capre

Delle 1272 capre testate il 53,1% (675) risultavano positive al test ELISA per CAEV, il 16% (203) al test per Paratubercolosi e il 21,9% erano positive alla SN (278) per la ricerca di anticorpi verso l'Herpesvirus caprino. I risultati sono riportati in Tabella 8.

Risultati sierologici per razza caprina

Analizzando i risultati sierologici ottenuti, sembrerebbe che la razza Sarda sia la più sensibile alla CAEV, infatti, in 167 soggetti (78,8% degli animali monitorati) il test ELISA ha dato esito positivo, segue la razza Saanen con 157 capre (71%). I capi appartenenti alla razza Sarda Primitiva positivi erano 114 (53,5%), 95 alla Camosciata delle Alpi (46,1%), 101 alla razza Maltese (48,1%) e 41 soggetti alla Murciano-Granadina (19,5%). La ricerca degli anticorpi verso il *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*, ha dato esito positivo nel 9,2% delle capre di razza Camosciata delle Alpi, nel 31,4% della razza Maltese, nel 18,1% della Murciano-Granadina, nel 5,2% della Sarda Primitiva, nel 15,4% della Saanen e nel 16,5% delle capre di razza Sarda. Infine, per quanto riguarda CpHV1, le positività alla sieroneutralizzazione sono state osservate nel 9,2% delle capre appartenenti alla razza Camosciata delle Alpi, nell'11,4%, della razza Maltese, nell'8,1% della razza Saanen e nel 0,5%, delle capre Murciano-Granadine. Percentuali decisamente superiori si sono registrate invece nella Sarda Primitiva con il 49,8%, e nella razza Sarda con il 51,9%. I risultati dei test sierologici sono riportati in Tabella 9.

Risultati sierologici per ordine di parto

I risultati dei test sierologici mostrano percentuali di positività più alte per tutte e tre le malattie nel gruppo delle capre oltre il 5° parto. Le positività sierologiche per CAEV sono molto alte in tutti e tre i gruppi, ma già dal terzo parto 6 capre su 10 sono sieropositive, fino a raggiungere la soglia del 64% nel gruppo delle capre oltre il 5° parto. In maniera simile si comporta CpHV1, anche se con percentuali di positività più basse; infatti nel primo gruppo (capre primipare e secondipare) si osserva positività nel 7%, nel secondo gruppo (capre al terzo/quarto parto) nel 16,7% e nel terzo gruppo (capre oltre il 5° parto) nel 41% degli animali testati. Per MAP, infine, la positività sierologica rimaneva sotto il 16% in tutti e tre i gruppi. Tutti i dati sono riportati in Tabella 10.

Qualità del latte

Risultati delle analisi chimiche sui campioni del latte e della lattodinamografia

Tutti i valori medi della composizione chimica media del latte e le sue caratteristiche tecnologiche sono riportati in Tabella 11. La produzione giornaliera media di latte (dMY) calcolata per tutte le capre testate era di 1.85 kg al giorno, con una produzione giornaliera di grasso e proteina (dFPY - Daily Fat & Protein Yield) pari a 0.14 kg/giorno. Il dFPY viene calcolato sommando i valori della concentrazione di grasso e proteine, moltiplicandoli per la dMY. La composizione chimica media del latte raccolto possedeva un contenuto del 4.6% di grasso, 3.61% di proteina, 4.65% di lattosio, il contenuto NaCl medio era di 252.84 mg/100 ml e pH medio di 6.72. Il valore medio di SCS è stato di 5.79 U mentre il valore medio dell'LBC era 1.70 U. I risultati della prova lattodinamografica mostravano un RCT (Rennet coagulation time), ovvero l'intervallo di tempo misurato in minuti dall'aggiunta del caglio all'inizio della solidificazione del latte, di 13 minuti in media, ed è stato possibile calcolarlo su 1256 campioni. Il K_{20} (valore in minuti che misura il tempo che passa dall'inizio della coagulazione al raggiungimento dell'ampiezza della campana lattodinamografica di 20 mm) era di 4.4 minuti, misurabile per 1202 campioni. Le ampiezze raggiunte dalla campana a 30 minuti (A_{30}), a 45 minuti (A_{45}) e a 60 minuti (A_{60}) erano in media rispettivamente di 36 millimetri, 36.2 millimetri e 27.8 millimetri. I parametri modellizzati mostravano un tempo di coagulazione stimato dal tracciato (RCT_{eq}) registrato di 13.9 minuti, la velocità istantanea di rassodamento (K_{CF}) era del 17.9% al minuto. la velocità istantanea di sineresi (K_{SR}) era dello 0.62% al minuto. La forza potenziale asintotica del coagulo (CF_P) era di 44.5 millimetri, la forza massima realmente registrata dal coagulo (CF_{MAX}) 39.4 millimetri e il tempo al quale questa viene raggiunta (T_{MAX}) era di 39.2 minuti. Sono stati inoltre raccolti i risultati relativi

alla prova di nanocaseificazione. La resa casearia (CY_{CURD}) era mediamente del 15.7%, il CY_{SOLID} del 7.7% e il CY_{WATER} 8%. Le proporzioni dei componenti del latte recuperati nella cagliata REC_{FAT} , $REC_{PROTEIN}$ e REC_{SOLID} erano in media rispettivamente del 80.5%, 81.5% e 55.7%. Infine la dCY_{CURD} , la dCY_{SOLID} e la dCY_{WATER} erano rispettivamente 0.28 kg/giorno, 0.15 kg/giorno e 0.14 kg/giorno.

Confronto per razza della qualità del latte e delle caratteristiche coagulative.

Confrontando le produzioni medie giornaliere delle varie razze caprine oggetto dello studio, appare evidente che le capre di razza Saanen e Camosciate delle Alpi hanno produzioni maggiori rispetto alle razze mediterranee. La Saanen produce in media 2.8 kg/giorno di latte, la Camosciata delle Alpi 2.7 kg/giorno, la Murciano-Granadina 2.1 kg/giorno, la Maltese 1.5 kg/giorno, la Sarda kg/giorno e la Sarda Primitiva 0.8 kg/giorno. Differenze statisticamente rilevanti si riscontrano tra razze mediterranee e alpine ($P < 0.001$), tra Murciano-Granadina e le altre razze di origine mediterranea ($P < 0.001$), tra la razza maltese e le razze della Sardegna ($P < 0.001$), mentre non c'è differenza significativa tra le medie ottenute nella Saanen e la Camosciata delle Alpi, né tra la razza Sarda e la Sarda Primitiva. Situazione simile si è potuto osservare per le misurazioni del $dFPY$ medio, anch'esso maggiore nelle razze alpine rispetto a quelle mediterranee. La Camosciata ha il valore maggiore (194.4 g/giorno), mentre il media più bassa è stata ottenuta nella Sarda Primitiva (84.9 g/giorno). Non sono state registrate significatività statistiche tra la Saanen e la Camosciata delle Alpi, ma queste sono evidenti se si comparano le razze alpine con quelle mediterranee ($P < 0.001$). Si sono osservate significatività statistiche comparando i risultati di produzione media tra le razze mediterranee, ma non confrontando le due razze della Sardegna.

Dal punto di vista qualitativo, la percentuale di grasso era mediamente maggiore nelle razze mediterranee. La Sarda Primitiva produce un latte con un contenuto percentuale di grasso del 6.2%, la Sarda del 5.1% la Maltese del 4.1%. la Murciano-Granadina del 4.6%. la Camosciata delle Alpi del 4% e la Saanen del 3.4%. Anche in questo caso l'effetto razza è statisticamente rilevante ($P < 0.001$), tranne quando si comparano tra loro le produzioni delle due razze Alpine. La quantità percentuale di proteina era del 3.2% della Saanen, del 3.4% della Camosciata delle Alpi, del 3.5% della Murciano-Granadina, del 3.4% della Maltese, del 4% nella Sarda e del 4.3% della Sarda Primitiva. Significatività statistiche rilevanti si sono potute osservare comparando le medie del contenuto in proteina tra le razze alpine e quelle mediterranee ($P < 0.001$) e tra le razze Maltese e Murciano-Granadina. La razza Sarda Primitiva mostrava un contenuto medio in proteina maggiore rispetto alla razza Sarda, ma non si è rilevata relazione statistica. Il contenuto medio di lattosio misurato era mediamente del 4.5% nelle due razze alpine e nella Maltese, e del 4.7% nelle razze della Sardegna e nella Murciano-Granadina. Si osserva significatività statistica solo comparando i risultati tra razze alpine e quelle mediterranee ($P < 0.001$). I valori medi del pH erano di 6.67 nella Saanen, 6.71 nella Camosciata delle Alpi, 6.79 nella Murciano-Granadina. 6.75 nella Maltese, 6.73 nella Sarda e 6.71 nella Sarda Primitiva. Significatività statistiche si osservano solo comparando le razze alpine con quelle mediterranee e la Saanen con la camosciata delle Alpi ($P < 0.05$). Per il contenuto in NaCl, SCS e LBC non si sono osservate correlazioni statistiche dovute all'effetto razza. Per quanto riguarda le caratteristiche coagulative del latte, la razza Saanen aveva un RCT medio di 14.4 minuti, la Camosciata delle Alpi e la Sarda Primitiva di 14.1 minuti, la Murciano-Granadina di 13.2 minuti, la Maltese 12.4 minuti e la Sarda di 13.4 minuti. Nonostante i tempi medi più lunghi nelle razze alpine, non sono state osservate significatività

statistiche per questo parametro. Il K_{20} medio maggiore si è registrato per la razza Maltese con 5.7 minuti, seguono la Saanen con 5.4 minuti e la Camosciata delle Alpi con 5.0 minuti, la Murciano-Granadina con 4.1 minuti. La Sarda e la Sarda Primitiva registravano rispettivamente 3.5 e 3.6 minuti. Significatività statistiche ($P < 0.05$) sono state evidenziate confrontando le razze Alpine con quelle mediterranee e confrontando la razza maltese con quelle della Sardegna. L'effetto razza ha effetti ($P < 0.05$) sul parametro A_{30} . Questo è, infatti, maggiore nelle razze mediterranee rispetto a quelle alpine (Saanen 25.7 mm e Camosciata delle Alpi 31.2 mm e 36.6 mm, 30.8 mm, 38.8 mm, 41.8 mm rispettivamente per la Murciano-Granadina, la Maltese, la Sarda e la Sarda Primitiva). Per A_{45} i risultati medi ottenuti erano: Saanen 27.0 mm, Camosciata 34.1 mm, Murciano-Granadina 38.1 mm, Maltese 31.5 mm, Sarda 38.8 mm e Sarda Primitiva 43.0 mm. Significatività statistiche si osservano solo comparando le razze Maltese con le razze autoctone della Sardegna, con queste ultime che mostrano una consistenza del coagulo decisamente maggiore rispetto a tutte le altre razze. Anche per i valori di A_{60} si osservano medie superiori nelle razze mediterranee rispetto a quelle alpine, con le razze autoctone della Sardegna che producono coaguli molto più resistenti. Per quanto riguarda i parametri modellizzati non sono state osservate differenze statisticamente rilevanti tra le razze alpine e mediterranee, con l'eccezione del K_{CF} ($P < 0.05$) che nella Camosciata delle Alpi ha il valore più basso (15.6%/minuto). I risultati ottenuti misurando l' RCT_{eq} andavano dai 12.9 minuti della Maltese ai 15.4 minuti della Camosciata delle Alpi. Tra le due razze alpine differenze statisticamente rilevanti ($P < 0.05$) sono state osservate per il parametro CF_P e per CF_{MAX} (entrambi superiori nella Camosciata delle Alpi). Tra le razze mediterranee le differenze maggiori si sono osservate tra le razze italiane (Sarda, Sarda Primitiva e Maltese) e quella Murciana-Granadina per i parametri CF_P e per CF_{MAX} ,

dove i valori medi più elevati sono stati registrati per la Sarda Primitiva. Allo stesso modo, significatività statistiche ($P < 0.001$) sono state rilevate confrontando le medie di CF_P e CF_{MAX} con quelle delle razze sarde (dove sono stati ottenuti valori superiori). Non sono state osservate significatività statisticamente rilevanti per nessun parametro confrontando le due razze della Sardegna. I tracciati lattodinamografici delle razze oggetto dello studio sono riportati nel Grafico 3. Per la nanocaseificazione i risultati medi ottenuti non mostrano grandi differenze tra le due razze alpine, anche se la Camosciata possiede una REC_{solid} maggiore rispetto alla Saanen. Anche se le razze mediterranee hanno minori produzioni, possiedono rese casearie e recuperi maggiori. Differenze maggiori sono state evidenziate comparando la razza Maltese con le due razze sarde, in cui i recuperi di grasso erano maggiori, mentre i recuperi proteina erano maggiori nella Maltese. Le rese casearie medie della razza Sarda (17.43%) e della Sarda Primitiva (18.66%) erano le migliori rispetto a tutte quelle delle altre razze. Tutti i risultati sono riportati in Tabella 12.

Confronto per tipo di management della qualità del latte e delle caratteristiche coagulative.

L'effetto management è evidente per tutti i parametri misurati. In particolare le produzioni sono mediamente più alte in allevamenti con management di tipo moderno rispetto a quelli tradizionali (2.35 Kg di latte prodotto al giorno contro i 1.18 Kg prodotti in allevamenti tradizionali), ma mostrano contenuto in grasso e proteine leggermente inferiore. Il latte di allevamenti tradizionali tende a coagulare prima ma a 30 minuti presenta una consistenza del coagulo meno forte rispetto al latte degli allevamenti moderni (situazione contraria però dopo 60 minuti). Anche i parametri lattodinamografici modellizzati tendono a essere migliori negli

allevamenti con management moderno. Infine, per quanto riguarda la nanocaseificazione, si può notare che, nonostante le produzioni giornaliere di grasso e proteina siano maggiori negli allevamenti moderni, la resa in formaggio è maggiore negli allevamenti tradizionali (16.29% negli allevamenti tradizionali, 14.9% in allevamenti moderni).

Risultati per ordine di parto

Confrontando i risultati dividendo le capre per ordine di parto si notano produzioni giornaliere medie erano maggiori nel gruppo delle primipare, con il dMY di 2.17 kg/giorno e il dFPY di 159.67 g/giorno. Anche la dFPY era maggiore nel gruppo delle primipare (159.67 g/giorno delle capre al primo e secondo parto, contro i 124.29 g/giorno delle capre oltre il 5° parto). Differenze statisticamente rilevanti sono state osservate anche per il contenuto in lattosio (maggiore nelle primipare) e per il contenuto in SCS (contenuto maggiore nel gruppo delle capre al terzo e quarto parto). Per quanto riguarda le caratteristiche coagulative i risultati hanno evidenziato una RCT più veloce nelle capre al primo parto, mentre l'A₃₀ e l'A₆₀ mediamente erano superiori nelle capre con ordine di parto maggiore (P<0.001). Differenze statisticamente rilevanti non sono state osservate differenze per il K₂₀, mentre era molto evidente (P<0.001) per i valori CF_P e per CF_{MAX}, dove le medie maggiori sono state osservate nelle capre che avevano partorito oltre 5 volte. I tracciati lattodinamografici per ordine di parto sono riportati nel Grafico 4.

Per quanto riguarda la nanocaseificazione, l'effetto parto era evidente per il REC_{protein}, maggiore nelle capre al terzo e quarto parto (81.75%). La CY_{curd} era inferiore nelle capre primipare (con rilevanza statistica P<0.05). La dCY_{curd}, la dCY_{solid} e la dCY_{water} mostravano valori più alti nelle capre al primo parto, mostrando un andamento decrescente con l'aumentare dell'ordine di parto. I dati sono riportati in Tabella 14.

Produzioni e stato sanitario

Confrontando i parametri produttivi dei capi sieropositivi a CAEV con quelli sieronegativi non si evidenziano sostanziali differenze. La produzione giornaliera non subiva cambiamenti (1.84 kg/giorno nei sieropositivi e 1.85 kg/giorno nei sieronegativi). La dFPY era tendenzialmente maggiore nei sieronegativi anche se non si è registrata alcuna significatività statistica. Quantità di proteina e ph non mostravano grosse variazioni. Il contenuto di lattosio invece era maggiore (4.66%) nei sieronegativi, mentre il contenuto in SCS era maggiore nei sieropositivi. Non si evidenziano modificazioni sostanziali confrontando i parametri lattodinamografici tra sieropositivi e sieronegativi. Infine, neanche i parametri della nanocaseificazione mostravano evidenti variazioni in relazione alla sieropositività per CAEV. I risultati sono riportati in Tabella 15.

Anche se le produzioni erano tendenzialmente maggiori nei soggetti sieronegativi per MAP (1.86 kg/giorno contro i 1.77 kg/giorno dei sieropositivi), non si è rilevata significatività statistica. In media tutti i parametri chimici dei sieronegativi sono leggermente migliori (maggiore contenuto in proteina e grasso) e i tracciati lattodinamografici erano sovrapponibili. Anche per la nanocaseificazione non si osservano sostanziali differenze tra sieropositivi e sieronegativi. L'effetto MAP non influenza statisticamente nessun parametro. Tutti i risultati sono riportati in Tabella 16.

Le rese giornaliere medie degli animali sieronegativi a CpHV1 (1.99 kg/giorno) erano decisamente superiori ai quelli sieropositivi (1.33 kg/giorno), ma non è stata evidenziata correlazione statistica. I risultati medi degli animali sieropositivi inoltre, mostrano contenuti superiori in proteina (3.9% nei sieropositivi e 3.55% nei sieronegativi) e grasso (4.45% nei

sieronegativi e 5.14% nei sieropositivi). Nessuna modifica è stata osservata per il contenuto in lattosio (4.61% in entrambi i gruppi). Il contenuto in sale è maggiore nei sieronegativi, mentre LBC e SCS erano leggermente maggiori nei sieronegativi. Nessuna correlazione statistica è stata osservata per i parametri lattodinamografici, a parte per RCT (con $P < 0.05$), leggermente più lungo nei sieronegativi (13.33 minuti) rispetto ai sieropositivi (13.86 minuti). Il K_{20} era maggiore di circa un minuto nei sieronegativi, mentre A_{30} , A_{45} e A_{60} risultavano maggiori nei sieropositivi. Nessuna correlazione statistica è stata osservata per i parametri lattodinamografici modellizzati. Le rese in formaggio erano maggiori nei sieropositivi (CY_{curd} 15.3% nei sieronegativi e 17.1% nei sieropositivi) nonostante le produzioni inferiori. Tutti i recuperi erano maggiori nei sieropositivi, mentre le produzioni giornaliere dCY_{CURD} , dCY_{WATER} , e dCY_{SOLIDS} erano maggiori nei sieronegativi. Nonostante tutte queste differenze, non sono stata riscontrate associazioni statistiche rilevanti. Tutti i risultati sono riportati in Tabella 17.

Discussione

Qualità in relazione alla razza, al management e all'ordine di parto

Dai dati in nostro possesso possiamo confermare che le razze alpine (Camosciata delle alpi e la Saanen) hanno produzioni maggiori rispetto alle razze mediterranee, anche se qualitativamente inferiori. In particolare, il latte delle capre appartenenti alla razza Sarda e Sarda Primitiva presenta il più alto contenuto in grasso e proteine osservato nelle nostre misurazioni. L'effetto razza non ha effetto sul contenuto in SCS in accordo con Zeng et. al. (Zeng S.S. 1995). Il latte delle razze autoctone sarde è molto adatto alla trasformazione in formaggio come confermato dai parametri lattodinamografici, i quali evidenziano un più breve K_{20} e un maggiore A_{30} , A_{45} e A_{60} rispetto alle razze alpine. L'effetto razza, quindi, influenza fortemente le produzioni e le rese in formaggio in accordo con Pazzola et al. (Pazzola M. 2019).

Confrontando il latte prodotto delle capre Saanen con quello prodotto dalle capre di razza Camosciata delle Alpi, non emergono particolari differenze dal punto di vista qualitativo in accordo con le osservazioni di Clark et al. (Clark S. 2000). Dal punto di vista statistico non si osservano significatività rilevanti confrontando i parametri della lattodinamografia, anche se altri autori (Ambrosoli R. 1988) ritengono che il latte della Camosciata delle Alpi possieda un'attitudine casearia maggiore rispetto la Saanen, per via del K_{20} più breve e della consistenza del coagulo maggiore. Tra le razze mediterranee, invece, si sono riscontrate molte differenze. Ad esempio, la razza Murciano-Granadina rispetto alle razze italiane, mostra maggiori produzioni quantitative e un contenuto in grasso e in proteina maggiore della maltese e delle razze alpine (anche se minore rispetto alle sarde autoctone).

Anche i parametri lattodinamografici sono migliori rispetto alla Maltese, ma inferiori rispetto alle due sarde. Il latte prodotto dalle due razze sarde autoctone, secondo quanto osservato dai dati raccolti, è migliore per la trasformazione in formaggio, poiché il K_{20} è più breve e la consistenza del coagulo è maggiore rispetto a tutte le altre razze oggetto dello studio. L'effetto razza ha importanti implicazioni anche sulle proprietà tecnologiche del latte. Analizzando i risultati ottenuti per i parametri lattodinamografici modellizzati sono emerse interessanti differenze, in particolare per il K_{CF} , CF_p e la CF_{max} . Il latte della Saanen ha la velocità istantanea di rassodamento maggiore ma la forza potenziale asintotica del coagulo è inferiore così come la forza massima realmente registrata dal coagulo. Paragonati però con i parametri ottenuti dalle razze italiane, questi risultano molto inferiori, per cui il latte delle razze alpine è eccellente per la produzione di latte alimentare, a molto meno efficiente se si volesse destinare alla produzione di formaggio. Il latte delle capre Murciano-Granadine ha caratteristiche che lo pongono tra le razze alpine e la razza Maltese, in termini di qualità e caratteristiche coagulative. I risultati ottenuti suggeriscono che la destinazione finale del latte delle Murciano-Granadine sia ottimo per il consumo diretto, ma molto meno efficiente per la trasformazione, poiché possiede un K_{20} più lungo rispetto le razze sarde autoctone e una consistenza del coagulo a 30 minuti inferiore. I parametri lattodinamografici modellizzati delle due razze sarde autoctone sono molto diversi da quelli delle altre razze oggetto dello studio. In particolare, l'effetto razza è evidente nella velocità di rassodamento del coagulo e nella CF_{max} , i quali mostrano medie migliori di tutte quelle delle altre razze oggetto dello studio. I risultati ottenuti dalla nanocaseificazione confermano, infine, quanto osservato nella lattodinamografia. I parametri delle razze alpine mostrano una mediocre capacità di trasformazione in formaggio nonostante le alte produzioni giornaliere, ma i recuperi di

proteina e grasso e la resa casearia sono decisamente inferiori a quelli di tutte le altre razze. I recuperi superiori nelle razze mediterranee possono essere spiegati per le migliori caratteristiche coagulative e di proprietà di sineresi. Le razze italiane hanno attitudine casearia superiore rispetto alla razza Murciano-Granadina perché presentano più alti livelli di recupero di grasso e proteina e migliore resa casearia. Differenze maggiori si trovano comparando la Maltese con le due razze autoctone della Sardegna, che presentano rese e recuperi nella cagliata ancora maggiori. Differenze apprezzabili tra la razza Sarda e Sarda Primitiva si osservano solo per resa casearia (superiore in quest'ultima di circa 1 punto percentuale). La razza Maltese viene comunque allevata per via delle maggiori produzioni rispetto alle capre sarde, con le quali spesso viene incrociata per tentare di migliorare le produzioni.

L'effetto azienda (effetto Farm) è dovuto a vari fattori, quali altitudine, dimensioni del gregge, razza o razze allevate e tipo di management (tradizionale, intermedio e moderno). Nonostante l'effetto azienda abbia comunque una certa influenza, le caratteristiche chimiche e coagulative si considerano maggiormente condizionate dalle caratteristiche genetiche individuali rispetto all'effetto che può avere il management.

L'effetto ordine di parto ha effetti sulle produzioni che tendono ad aumentare con il numero dei parti, risultati in contrasto con quanto osservato da Ciappesoni et. al. (Ciappesoni G. 2004), mentre non sembra avere effetti sul contenuto in grasso e proteine. Al contrario lattosio tende a decrescere con l'ordine di parto. Zeng et al., invece, non osservarono nessuna associazione statistica per quanto riguarda l'ordine di parto in relazione ai caratteri qualitativi (Zeng S.S. 1995). Anche gli studi di Dublin et al. confermano che l'ordine di parto influenza

le produzioni delle capre (Dulin A.M. 1983). Il contenuto in cellule somatiche tende ad aumentare con l'aumentare dei parti. Come osservato su uno studio sul bovino di Stocco et. al., l'ordine di parto ha effetti anche sui parametri lattodinamografici (Stocco G. 2017). Il latte delle primipare tende a coagulare prima, ma le grandezze del coagulo è inferiore rispetto alle capre di ordine di parto superiore. La resa casearia è maggiore nelle capre oltre il 5 parto ($P < 0.05$) nonostante le produzioni decrescano e che il $REC_{protein}$ sia significativamente maggiore nelle primipare.

Qualità del latte in relazione allo stato sanitario

CAEV

L'effetto CAEV non influenza la produzione giornaliera che in media è molto simile tra sieropositivi e sieronegativi. Allo stesso modo la qualità del latte non viene influenzata, a parte il contenuto in lattosio che risulta essere leggermente maggiore nei sieropositivi. Neanche la MCP subiscono sostanziali variazioni, anche se il K_{20} risulta leggermente più breve e il coagulo è più consistente. La consistenza massima del coagulo è maggiore e raggiunta in meno tempo nei sieronegativi rispetto ai sieropositivi. In generale tutti i parametri sono migliori nei sieronegativi ma non si è osservata relazione statistica con l'effetto CAEV. Anche la prova della nanocaseificazione non mostra differenze statisticamente significative in termini di resa casearia, produzioni giornaliere e recuperi nella cagliata. Anche se il latte dei soggetti sieronegativi ha una attitudine casearia maggiore di quello dei soggetti sieropositivi, questo non sembra essere dovuto all'effetto CAEV. Dai nostri dati non sembra che la sieropositività a CAEV possa influenzare la qualità o la quantità del latte di capra prodotto, in accordo con gli studi di Martinez Navalon et al. (Martínez Navalón B. 2002). Al contrario

Tariba et al. (Tariba B. 2017) e Turin et al. (Turin L. 2005), osservavano un netto peggioramento dei parametri qualitativi del latte caprino. Anche le produzioni, secondo le nostre osservazioni rimangono invariate, come registrato da Kaba et al. (Kaba J. 2012). Altri autori (Leitner G. 2010), (Martínez Navalón B. 2002) (Martínez-Navalón B. 2013) invece osservano una diminuzione della quantità di latte prodotto. Probabilmente la discordanza tra le varie osservazione potrebbe essere dovuta all'influenza di altri fattori, quali per esempio il management o la compresenza di altre patologie. Allo stesso modo il latte dei soggetti sieropositivi può essere lavorato senza temere particolari cali nella resa casearia.

MAP

Nonostante in media i soggetti sieronegativi producano un latte quantitativamente maggiore (1.86 kg/giorno rispetto ai 1.77 kg/giorno dei sieropositivi), e con tenori in proteina e grasso maggiori, non si sono evidenziate significatività statistiche che queste differenze siano da attribuire alla presenza/assenza di MAP. Anche i parametri lattodinamografici non mostrano particolari variazioni tra sieropositivi e sieronegativi. Il K_{20} dei sieropositivi è leggermente più breve ma la consistenza del coagulo è inferiore (in particolare A_{60}). Dai parametri lattodinamografici modellizzati non si evidenzia nessuna associazione statistica. Le rese casearie, recuperi e produzioni giornaliere sono maggiori nei sieronegativi, ma neanche in questo caso la sieropositività a MAP non influenza statisticamente nessun parametro analizzato. Principalmente sono stati eseguiti studi sui bovini nei quali l'effetto MAP è associato con cali di produzione molto consistenti (McAloon C.G. 2016), ma stando alle nostre osservazioni la sieropositività per paratubercolosi non sembra avere effetti sulle produzioni delle capre.

Carlo Emanuele Pilo

Sieroprevalenze di CAEV, MAP e CpHV1 in capre allevate in Sardegna e loro effetti sulle caratteristiche del latte

Tesi di dottorato in Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Sassari

CpHV1

Nonostante i soggetti sieropositivi abbiano produzioni decisamente inferiori rispetto ai sieronegativi, questi ultimi mostrano contenuti percentuali medi di grasso e proteine inferiori. Per entrambi gli eventi non c'è associazione statistica e non sembrano quindi essere influenzati dalla presenza del virus. La prova della lattodinamografia mostra un RCT più breve nei soggetti sieronegativi con un moderato effetto della sieropositività a CpHV1. Gli altri parametri mostrano una attitudine alla caseificazione addirittura maggiore nei soggetti, con consistenze dei coaguli maggiori e tempi di sineresi inferiori. Le rese casearie e i recuperi sono più alti nelle capre sieropositive, ma le produzioni giornaliere sono maggiori nelle capre sieronegative. Non essendo state comunque evidenziate differenze statisticamente rilevanti, l'effetto sieropositività a CpHV1 non sembra influenzare la quantità e la qualità del latte prodotto, in contrasto con quanto osservato nei bovini da Rola et al. (Rola J.G. 2015). Allo stesso modo non sono stati registrati effetti sulla capacità di trasformazione in formaggio.

Conclusioni

La Sardegna possiede circa un quinto del patrimonio caprino italiano, ma i prodotti di questa filiera non sono tutelati da alcun marchio. Con questa ricerca siamo stati in grado di dimostrare l'alta qualità del latte delle capre sarde, ottimo per la produzione di formaggio, che potrebbe avere un enorme ritorno economico. Abbiamo inoltre dimostrato la grandissima diffusione delle patologie virali caprine, malattie che rappresentano una grave minaccia per questo settore. Stando alle nostre osservazioni però, la sola sieropositività non determina cali di produzioni o effetti negativi sulla capacità di trasformazione del latte in formaggio. Sarà di grande importanza nel prossimo futuro riuscire a controllare le patologie da lentivirus per salvaguardare il benessere degli animali e il patrimonio caprino della Sardegna, in maniera da poter sfruttare i risultati raccolti in un prossimo futuro per il miglioramento tecnologico della filiera e la valorizzazione delle produzioni della capra Sarda.

Tabelle

Tabella 1 Confronto dei diversi studi sugli effetti di CAEV alla produzione di latte caprino	67
Tabella 2 Stima delle perdite causate dalla JD per anno/vacca nel comparto bovino	68
Tabella 3 Classificazione aziende per livello di management, consistenza e altimetria	68
Tabella 4 Consistenza percentuale delle capre selezionate per razza	68
Tabella 5 Ripartizione per razza delle capre secondo ordine di parto	69
Tabella 6 Situazione sanitaria degli allevamenti testati	69
Tabella 7 Range di prevalenza all'interno degli allevamenti oggetto dello studio	69
Tabella 8 Risultati dei test sierologici individuali per CAEV, MAP e CpHV1	69
Tabella 9 Risultati sierologici positivi per CAEV, MAP e CpHV1 in relazione alla razza	70
Tabella 10 Risultati sierologici individuali per CAEV, MAP e CpHV1 per le capre divise in gruppi in relazione all'ordine di parto	70
Tabella 11 Parametri della resa della produzione del latte e della composizione chimica	71
Tabella 12 Comparazione dei risultati delle analisi chimiche, delle caratteristiche coagulative e dei risultati della prova di nanocaseificazione tra le razze oggetto dello studio	72
Tabella 13 Comparazione dei risultati delle analisi chimiche, delle caratteristiche coagulative e dei risultati della prova di nanocaseificazione in relazione al tipo di management	74

Tabella 14 Comparazione dei risultati delle analisi chimiche, delle caratteristiche coagulative e dei risultati della prova di nanocaseificazione per ordine di parto	76
Tabella 15 Confronto dei parametri dei sieropositivi e sieronegativi per CAEV	78
Tabella 16 Confronto dei parametri dei sieropositivi e sieronegativi per MAP.....	79
Tabella 17 Confronto dei parametri dei sieropositivi e sieronegativi per CpHV1	80

Grafici

Grafico 1 Parametri lattodinamografici classici e modellizzati.....	81
Grafico 2 Allevamenti con positività sierologiche per CAEV, MAP e CpHV1	81
Grafico 3 Comparazione dei tracciati lattodinamografici delle razze oggetto dello studio. Saanen (Sa), Camosciata della Alpi (CA), Murciano-Granadina (MG), Maltese (Ma), Sarda (Sr) e Sarda Primitiva (SP).	82
Grafico 4 Confronto dei tracciati lattodinamografici per ordine di parto.....	82

Tabella 1 Confronto dei diversi studi sugli effetti di CAEV alla produzione di latte caprino

Paese della sperimentazione	Anno	Conta cellule somatiche	Effetti sulla Quantità	Effetti sulla Qualità	Numero delle capre studiate	Razza delle capre studiate	Numero Allevamenti	Riferimento bibliografico
Polonia	2012	No aumento, no predisposizione a mastite	Nessuna riduzione	Lievemente peggiore	177	Polish white improved	1	(Juste R.A. 2011)
Israele	2010	Nessun aumento, ma predisposizione mastite	Riduzione solo nelle primipare CAEV+	Non valutata	248	Saanen incrociata con Shami	1	(Leitner G. 2010)
Spagna	2002	Non valutata	Forte diminuzione	Nessuna modifica	1890	Murciano-Granadina	12	(Martínez Navalón B. 2002)
Australia	1992	Aumento con predisposizione mastite	Non valutata	Non valutata	352	Toggenburg/ Saanen	3	(Greenwood P.L. 1995)
Spagna	2001	Aumento no predisposizione mastite	Non valutata	Non valutata	121	Murciano-Granadina	4	(Sánchez A. 2001)
Spagna	2012	Aumento forse predisposizione a mastite	Riduzione significativa e lattazione più corta	Significativamente peggiore	4543	Murciano-Granadina	22	(Martínez-Navalón B. 2013)
Italia	2005	Aumento	Nessuna riduzione	Riduzione proteina ma non lattosio. Aumento del contenuto in grasso nel latte delle Sieropositive	30	Solo primipare	1	(Turin L. 2005)
Norvegia	1997	Durante la prima lattazione nessuna modifica significativa, ma aumentano con la seconda	Nessuna riduzione	Nessuna modifica	1799	Varie-	66	(Nord K. 1997)
Croazia	2017	Non valutato	Forte diminuzione	Significativamente peggiore	808	Alpina francese	12	(Tariba B. 2017)

Tabella 2 Stima delle perdite causate dalla JD per anno/vacca nel comparto bovino

Paese	Perdite stimate/anno/vacca
USA	21-97 USD \$
Australia	45-88 A\$
Canada	49 C\$
Francia	49 €
UK	27 GBP £
NE	67 €

8° Congresso Nazionale sulla Paratubercolosi (Arrigoni N. 2018)

Tabella 3 Classificazione aziende per livello di management, consistenza e altimetria

Classificazione	Numero allevamenti
Management	
Tradizionale	11
Intermedio	14
Moderno	10
Consistenza	
Piccolo (< 100 capi)	11
Medio (100-200 capi)	14
Grande (>200 capi)	10
Altimetria	
Pianura (<200 m altitudine)	11
Collina (200-500 m altitudine)	14
Montagna (>500 m altitudine)	10

Tabella 4 Consistenza percentuale delle capre selezionate per razza

Razza	Consistenza
Saanen	17,4%
Camosciata	16,2%
Murciana	16,5%
Maltese	16,5%
Sarda	16,7%
Primitiva	16,7%

Tabella 5 Ripartizione per razza delle capre secondo ordine di parto

Ordine di parto	Numero	Saanen	Camosciata delle Alpi	Murciano-Granadina	Maltese	Sarda	Sarda Primitiva
1° e 2° parto	392	29%	37%	34%	18%	10%	10%
3° e 4° parto	460	18%	13%	13%	19%	22%	14%
≥ 5° parto	420	13%	10%	12%	17%	20%	29%

Tabella 6 Situazione sanitaria degli allevamenti testati

Situazione sanitaria	Numero di allevamenti	Percentuale
Positività solo per CAEV	4	11%
Positività solo per MAP	4	11%
Positività solo per CpHV1	1	3%
Positività per CAEV e MAP	12	34%
Positività per CAEV e CpHV1	5	14%
Positività per MAP e CpHV1	1	3%
Positività per CAEV, MAP e CpHV1	7	20%
Negativo per le tre patologie	1	3%

Tabella 7 Range di prevalenza all'interno degli allevamenti oggetto dello studio

Malattia	Minima	Massima
CAE	2%	100%
PTB	2%	70%
CpHV1	2,5%	88,89%

Tabella 8 Risultati dei test sierologici individuali per CAEV, MAP e CpHV1

Risultati dei test sierologici per CAEV	Percentuale
Negativo	46,9%
Positivo	53,1%
Risultati dei test sierologici per MAP	Percentuale
Negativo	83,4%
Positivo	16,0%
Risultati della SN per CpHV1	Percentuale
Negativo	78,1%
Positivo	21,9%

Tabella 9 Risultati sierologici positivi per CAEV, MAP e CpHV1 in relazione alla razza

RAZZA	CAEV	MAP	CpHV1
Saanen	71,0%	15,4%	8,1%
Camosciata delle Alpi	46,1%	9,2%	9,2%
Murciano - Granadina	19,5%	18,1%	0,5%
Maltese	48,1%	31,4%	11,4%
Sarda	78,8%	16,5%	51,9%
Sarda primitiva	53,5%	5,2%	49,8%

Tabella 10 Risultati sierologici individuali per CAEV, MAP e CpHV1 per le capre divise in gruppi in relazione all'ordine di parto

Risultati dei test sierologici per CAEV	Primo e Secondo parto	Terzo o quarto parto	Oltre il 5° parto
Positivo	34,2%	59,1%	64,0%
Negativo	65,8%	40,9%	36,0%
Risultati dei test sierologici per MAP	Primo e Secondo parto	Terzo o quarto parto	Oltre il 5° parto
Positivo	16,1%	15,2%	16,7%
Negativo	83,2%	84,3%	82,6%
Risultati dei test sierologici per CpHV1	Primo e Secondo parto	Terzo o quarto parto	Oltre il 5° parto
Positivo	7,4%	16,7%	41,0%
Negativo	92,6%	83,3%	59,0%

Tabella 11 Parametri della resa della produzione del latte e della composizione chimica

Parametro	Numero di campioni	Unità di misura	Media	Deviazione standard
dMY	1272	kg/d	1.85	1.10
dFPY	1272	g/d	140	72.11
Grasso	1268	%	4.60	1.49
Proteine	1268	%	3.61	0.63
Lattosio	1268	%	4.65	0.42
NaCl	1272	mg/100 ml	252.84	58.14
pH	1268		6.72	0.01
SCS	1272	U	5.79	2.02
LBC	1253	U	1.70	0.83
RCT	1256	min	13.1	5.69
K ₂₀	1202	min	4.40	3.95
A ₃₀	1229	mm	36.0	13.87
A ₄₅	1254	mm	36.2	13.51
A ₆₀	1255	mm	27.8	17.70
RCT _{eq}	1256	min	13.9	5.43
K _{CF}	1256	%/ min	17.9	9.04
K _{SR}	1237	%/min	0.68	0.60
CF _P	1256	mm	44.5	12.63
CF _{MAX}	1256	mm	39.4	11.17
T _{MAX}	1256	min	39.20	12.09
CY _{CURD}	1120	%	15.7	2.98
CY _{WATER}	1114	%	8.0	1.40
CY _{SOLIDS}	1120	%	7.7	1.50
REC _{FAT}	1120	%	80.5	6.50
REC _{PROTEIN}	1120	%	81.5	2.67
REC _{PROTEIN}	1120	%	55.7	5.59
REC _{ENERGY}	1120	%	66.3	5.78
dCY _{CURD}	560	kg/giorno	0.28	0.15
dCY _{WATER}	557	kg/giorno	0.15	0.07
dCY _{SOLIDS}	560	kg/giorno	0.14	0.069

dMY= daily milk yield (produzione giornaliera di latte; dFPY = produzione giornaliera di proteina e grasso; SCS = $\log_2(\text{SCC} \times 10^{-5}) + 3$; LBC = conta batterica logaritmica = $\log_{10}(\text{conta batterica totale}/1000)$; RCT = Rennet coagulation time (tempo intercorso tra l'aggiunta del caglio e l'apertura della campana; K₂₀= tempo necessario affinché la campana raggiunga ua ampiezza di 20 mm; A₃₀, A₄₅ e A₆₀= consistenza del coagulo a 30, 45, and 60 minuti rispettivamente dopo l'aggiunta del caglio; CF_P = forza potenziale asintotica del coagulo; K_{CF} = velocità istantanea di rassodamento; K_{SR} = velocità istantanea di sineresi; RCT_{eq} = tempo di coagulazione stimato dal tracciato; CF_{MAX} = forza massima realmente registrata dal coagulo; T_{MAX} = tempo al quale la consistenza massima viene raggiunta; CY_{CURD} = resa casearia; CY_{WATER} = ritenzione dell'acqua nella cagliata; CY_{SOLIDS} = resa in sostanza secca; REC_{FAT} = recupero percentuale di grasso nella cagliata; REC_{PROTEIN} = recupero di proteina nella cagliata; REC_{ENERGY} = stima dell'energia della cagliata; dCY_{CURD} = resa casearia giornaliera; dCY_{WATER} = ritenzione giornaliera di acqua e siero; dCY_{SOLIDS} = resa giornaliera in solidi.

Tabella 12 Comparazione dei risultati delle analisi chimiche, delle caratteristiche coagulative e dei risultati della prova di nanocaseificazione tra le razze oggetto dello studio

Parametro	Numero campioni	Unità di misura	Saanen	Camosciata delle Alpi	Murciano-Granadina	Maltese	Sarda	Sarda primitiva	Errore standard
dMY	1272	kg/giorno	2.8 ^A	2.7 ^A	2.1 ^B	1.5 ^C	1.0 ^D	0.8 ^D	0.08
dFPY	1272	g/giorno	187.1 ^A	194.4 ^A	167.3 ^B	110.9 ^C	93.2 ^D	84.9 ^D	5.90
grasso	1268	%	3.4 ^E	4.0 ^E	4.6 ^D	4.1 ^C	5.1 ^B	6.2 ^A	0.12
proteina	1268	%	3.2 ^D	3.4 ^{DB}	3.5 ^C	3.4 ^B	4.0 ^A	4.3 ^A	0.04
lattosio	1268	%	4.5 ^B	4.5 ^B	4.7 ^A	4.5 ^B	4.7 ^A	4.7 ^A	0.03
pH	1268		6.67 ^c	6.71 ^{ab}	6.79 ^a	6.75 ^a	6.73 ^a	6.71 ^a	0.01
NaCl	1272	mg/ 100 ml	314.24	284.78	250.42	315.91	226.18	202.37	4.36
SCS	1272	U	5.0	5.4	5.7	6.2	6.1	6.2	0.20
LBC	1253	U	2.18	1.91	2.21	1.12	1.61	1.79	0.07
RCT	1256	min	14.4	14.1	13.2	12.4	13.4	14.1	0.47
K ₂₀	1202	min	5.4 ^b	5.0 ^b	4.1 ^b	5.7 ^a	3.5 ^c	3.6 ^c	0.36
A ₃₀	1229	mm	25.7 ^d	31.2 ^d	36.6 ^b	30.8 ^c	38.8 ^a	41.8 ^a	1.14
A ₄₅	1254	mm	27.0 ^c	34.1 ^c	38.1 ^b	31.5 ^c	38.8 ^a	43.0 ^a	0.873
A ₆₀	1255	mm	20.8 ^c	21.6 ^c	27.1 ^c	17.5 ^a	36.5 ^b	40.0 ^a	1.59
RCT _{eq}	1256	min	15.0	15.4	13.9	12.9	14.4	15.2	0.45
K _{CF}	1256	%/min	19.3 ^a	15.6 ^b	17.4 ^a	18.4 ^a	20.4 ^a	18.9 ^a	0.94
K _{SR}	1237	%/min	0.8	0.6	0.5	0.7	0.8	0.6	0.17
CF _P	1256	mm	35.0 ^e	43.7 ^c	46.0 ^b	39.9 ^D	48.5 ^a	52.3 ^a	0.816
CF _{MAX}	1256	mm	31.0 ^e	38.6 ^d	40.7 ^c	35.3 ^B	42.9 ^a	46.2 ^a	1.09
T _{MAX}	1256	min	39.9	42.6	39.8	39.3	37.5	38.8	1.4
REC _{FAT}	1120	%	77.37 ^D	77.61 ^D	79.87 ^c	80.69 ^b	84.45 ^a	84.09 ^a	0.60
REC _{PROTEIN}	1120	%	80.29 ^D	80.63 ^C	81.38 ^b	82.45 ^a	82.28 ^a	82.47 ^a	0.26
REC _{SOLID}	1120	%	51.83 ^A	52.75 ^b	55.25 ^c	55.46 ^d	59.18 ^e	61.41 ^e	0.47
REC _{ENERGY}	1120	%	62.18 ^E	63.54 ^d	65.38 ^C	66.06 ^B	70.08 ^a	71.77 ^a	0.48
CY _{CURD}	1120	%	13.55 ^E	14.12 ^E	15.54 ^d	15.41 ^C	17.43 ^b	18.66 ^a	0.26

Parametro	Numero campioni	Unità di misura	Saanen	Camosciata delle Alpi	Murciano-Granadina	Maltese	Sarda	Sarda primitiva	Errore standard
CY _{WATER}	1114	%	7.13 ^C	7.47 ^C	7.89 ^b	8.37 ^a	8.50 ^a	8.85 ^a	0.15
CY _{SOLIDS}	1120	%	6.46 ^D	6.80 ^D	7.65 ^c	7.16 ^B	8.93 ^A	9.97 ^A	0.13
dCY _{CURD}	560	kg/giorno	0.36 ^A	0.41 ^A	0.33 ^B	0.25 ^C	0.19 ^D	0.16 ^D	0.012
dCY _{WATER}	557	kg/giorno	0.19 ^A	0.22 ^A	0.17 ^B	0.14 ^C	0.09 ^D	0.07 ^D	0.006
dCY _{SOLIDS}	560	kg/giorno	0.17 ^A	0.19 ^A	0.16 ^B	0.11 ^C	0.10 ^D	0.08 ^D	0.006

dMY= daily milk yield (produzione giornaliera di latte; dFPY = produzione giornaliera di proteina e grasso; SCS = $\log_2(\text{SCC} \times 10^{-5}) + 3$; LBC = conta batterica logaritmica = $\log_{10}(\text{conta batterica totale}/1000)$; RCT = Rennet coagulation time (tempo intercorso tra l'aggiunta del caglio e l'apertura della campana; K₂₀= tempo necessario affinché la campana raggiunga ua ampiezza di 20 mm; A₃₀, A₄₅ e A₆₀= consistenza del coagulo a 30, 45, and 60 minuti rispettivamente dopo l'aggiunta del caglio; CF_P = forza potenziale asintotica del coagulo; K_{CF} = velocità istantanea di rassodamento; K_{SR} = velocità istantanea di sineresi; RCT_{eq} = tempo di coagulazione stimato dal tracciato; CF_{MAX} = forza massima realmente registrata dal coagulo; T_{MAX} = tempo al quale la consistenza massima viene raggiunta; CY_{CURD} = resa casearia; CY_{WATER} = ritenzione dell'acqua nella cagliata; CY_{SOLIDS} = resa in sostanza secca; REC_{FAT} = recupero percentuale di grasso nella cagliata; REC_{PROTEIN} = recupero di proteina nella cagliata; REC_{ENERGY} = stima dell'energia della cagliata; dCY_{CURD} = resa casearia giornaliera; dCY_{WATER} = ritenzione giornaliera di acqua e siero; dCY_{SOLIDS} = resa giornaliera in solidi.

Per ciascuna riga o parametro differenti lettere maiuscole indicano differenze statisticamente significative per P<0.001. lettere minuscole per P<0.05

Tabella 13 Comparazione dei risultati delle analisi chimiche, delle caratteristiche coagulative e dei risultati della prova di nanocaseificazione in relazione al tipo di management

Parametro	Numero campioni	Unità di misura	Tradizionale	Intermedio	Moderno	Deviazione Standard	Errore standard
dMY	1272	kg/giorno	1.18 ^C	2.02 ^B	2.35 ^A	0.98123	0.04
dFPY	1272	g/giorno	95.13 ^C	157.03 ^B	171.96 ^A	63.5133	3.09
grasso	1268	%	4.7 ^A	4.6 ^B	4.2 ^C	1.46863	0.07
proteina	1268	%	3.76 ^A	3.58 ^B	3.54 ^C	0.61883	0.03
lattosio	1268	%	4.62 ^B	4.51 ^C	4.722 ^A	0.3733	0.01
pH	1268		6.71 ^B	6.708 ^C	6.72 ^A	0.12	0.00587
NaCl	1272	mg/ 100 ml	249.23 ^B	262.65 ^A	244.39 ^C	56.99	2.77
SCS	1272	U	5.9293 ^C	5.9506 ^A	5.433 ^B	1.9937	0.09713
LBC	1253	U	1.5926 ^C	1.8297 ^A	1.7311 ^B	0.79453	0.0386
RCT	1256	min	13.773 ^B	13.933 ^A	13.093 ^C	5.46733	0.26833
K ₂₀	1202	min	4.822 ^B	5.248 ^A	4.304 ^C	3.599	0.17867
A ₃₀	1229	mm	36.232 ^C	34.48 ^B	36.74 ^A	12.372	0.61333
A ₄₅	1254	mm	36.389 ^B	35.014 ^C	37.224 ^A	12.8603	0.63133
A ₆₀	1255	mm	31.203 ^A	24.575 ^C	28.315 ^B	17.298	0.85633
RCT _{eq}	1256	min	14.384 ^B	14.59 ^A	13.804 ^C	5.41333	0.26567
K _{CF}	1256	%/min	18.854 ^A	18.35 ^C	18.369 ^B	9.03133	0.44267
K _{SR}	1237	%/min	0.7003 ^A	0.6909 ^B	0.6337 ^C	0.5987	0.02957
CF _P	1256	mm	45.113 ^B	43.027 ^C	45.403 ^A	12.511	0.61267
CF _{MAX}	1256	mm	39.923 ^B	38.077 ^C	40.18 ^A	11.0713	0.54267
T _{MAX}	1256	min	39.382 ^C	39.413 ^B	38.735 ^A	12.0783	0.592
REC _{FAT}	1120	%	81.92 ^A	80.35 ^B	79.19 ^C	6.48005	0.481
REC _{PROTEIN}	1120	%	81.77 ^A	81.46 ^B	81.44 ^C	2.6807	0.198
REC _{SOLID}	1120	%	56.93 ^A	56.10 ^B	54.01 ^C	5.4572	0.40
REC _{ENERGY}	1120	%	67.50 ^A	66.55 ^B	64.60 ^C	5.6813	0.421
CY _{CURD}	1120	%	16.29 ^A	15.73 ^B	14.90 ^C	2.9955	0.221

Parametro	Numero campioni	Unità di misura	Tradizionale	Intermedio	Moderno	Deviazione Standard	Errore standard
CY _{WATER}	1114	%	8.325 ^A	7.99 ^B	7.679 ^C	1.5107	0.111
CY _{SOLIDS}	1120	%	7.32 ^C	7.810 ^A	7.35 ^B	1.7582	0.13
dCY _{CURD}	560	kg/giorno	0.18 ^C	0.32 ^B	0.34 ^A	0.1322	0.009
dCY _{WATER}	557	kg/giorno	0.09 ^C	0.16 ^B	0.18 ^A	0.074	0.0055
dCY _{SOLIDS}	560	kg/giorno	0.09 ^C	0.15 ^B	0.16 ^A	0.0598	0.004

dMY= daily milk yield (produzione giornaliera di latte; dFPY = produzione giornaliera di proteina e grasso; SCS = $\log_2(\text{SCC} \times 10^{-5}) + 3$; LBC = conta batterica logaritmica = $\log_{10}(\text{conta batterica totale}/1000)$; RCT = Rennet coagulation time (tempo intercorso tra l'aggiunta del caglio e l'apertura della campana; K₂₀= tempo necessario affinché la campana raggiunga ua ampiezza di 20 mm; A₃₀, A₄₅ e A₆₀= consistenza del coagulo a 30, 45, and 60 minuti rispettivamente dopo l'aggiunta del caglio; CF_P = forza potenziale asintotica del coagulo; K_{CF} = velocità istantanea di rassodamento; K_{SR} = velocità istantanea di sineresi; RCT_{eq} = tempo di coagulazione stimato dal tracciato; CF_{MAX} = forza massima realmente registrata dal coagulo; T_{MAX} = tempo al quale la consistenza massima viene raggiunta; CY_{CURD} = resa casearia; CY_{WATER} = ritenzione dell'acqua nella cagliata; CY_{SOLIDS} = resa in sostanza secca; REC_{FAT} = recupero percentuale di grasso nella cagliata; REC_{PROTEIN} = recupero di proteina nella cagliata; REC_{ENERGY} = stima dell'energia della cagliata; dCY_{CURD} = resa casearia giornaliera; dCY_{WATER} = ritenzione giornaliera di acqua e siero; dCY_{SOLIDS} = resa giornaliera in solidi.

Per ciascuna riga o parametro differenti lettere maiuscole indicano differenze statisticamente significative per P<0.001. lettere minuscole per P<0.05

Tabella 14 Comparazione dei risultati delle analisi chimiche, delle caratteristiche coagulative e dei risultati della prova di nanocaseificazione per ordine di parto

Parametro	Numero campioni	Unità di misura	Primo o secondo parto	Terzo o quarto parto	Quinto e oltre
dMY	1272	kg/giorno	2.17 ^A	1.85 ^B	1.56 ^B
DFPY	1272	g/giorno	159.67 ^A	141.97 ^B	124.29 ^B
Grasso	1268	%	4.28	4.63	4.87
Proteina	1268	%	3.52	3.59	3.78
lattosio	1268	%	4.66 ^A	4.62 ^B	4.57 ^C
pH	1268		6.72	6.72	6.71
NaCl	1272	mg/ 100 ml	251.87	250.45	256.36
SCS	1272	U	5.15 ^C	5.62 ^B	6.57 ^A
LBC	1253	U	1.97	1.71	1.80
RCT	1256	min	13.25 ^b	13.34 ^a	13.74 ^a
K ₂₀	1202	min	4.44	4.50	4.56
A ₃₀	1229	mm	33.51 ^B	34.76 ^a	35.17 ^a
A ₄₅	1254	mm	35.28 ^c	35.19 ^b	36.37 ^a
A ₆₀	1255	mm	25.04 ^C	28.75 ^A	28.27 ^B
RCT _{eq}	1256	min	14.05 ^B	14.07 ^A	14.75 ^A
K _{CF}	1256	%/min	17.20	19.49	18.67
K _{SR}	1237	%/min	0.63	0.74	0.62
CF _P	1256	mm	44.06 ^B	43.85 ^B	45.37 ^A
CF _{MAX}	1256	mm	38.99 ^B	38.81 ^B	40.15 ^A
T _{MAX}	1256	min	40.78	38.08	38.97
CY _{CURD}	1120	%	14.88 ^b	15.88 ^b	16.37 ^a
CY _{WATER}	1114	%	7.70	8.16	8.19
CY _{SOLIDS}	1120	%	7.28	7.72	8.34
REC _{FAT}	1120	%	79.65	80.61	81.45

Parametro	Numero campioni	Unità di misura	Primo o secondo parto	Terzo o quarto parto	Quinto e oltre
REC _{PROTEIN}	1120	%	81.59 ^B	81.75 ^A	81.27 ^C
REC _{SOLID}	1120	%	54.43	55.81	57.32
REC _{ENERGY}	1120	%	64.93	66.49	67.68
dCY _{CURD}	560	kg/giorno	0.32 ^A	0.29 ^B	0.23 ^C
dCY _{WATER}	557	kg/giorno	0.17 ^A	0.15 ^B	0.12 ^C
dCY _{SOLIDS}	560	kg/giorno	0.16 ^A	0.14 ^B	0.12 ^C

dMY= daily milk yield (produzione giornaliera di latte; dFPY = produzione giornaliera di proteina e grasso; SCS = $\log_2(\text{SCC} \times 10^{-5}) + 3$; LBC = conta batterica logaritmica = $\log_{10}(\text{conta batterica totale}/1000)$; RCT = Rennet coagulation time (tempo intercorso tra l'aggiunta del caglio e l'apertura della campana; K₂₀= tempo necessario affinché la campana raggiunga un'ampiezza di 20 mm; A₃₀, A₄₅ e A₆₀= consistenza del coagulo a 30, 45, and 60 minuti rispettivamente dopo l'aggiunta del caglio; CF_P = forza potenziale asintotica del coagulo; K_{CF} = velocità istantanea di rassodamento; K_{SR} = velocità istantanea di sineresi; RCT_{eq} = tempo di coagulazione stimato dal tracciato; CF_{MAX} = forza massima realmente registrata dal coagulo; T_{MAX} = tempo al quale la consistenza massima viene raggiunta; CY_{CURD} = resa casearia; CY_{WATER} = ritenzione dell'acqua nella cagliata; CY_{SOLIDS} = resa in sostanza secca; REC_{FAT} = recupero percentuale di grasso nella cagliata; REC_{PROTEIN} = recupero di proteina nella cagliata; REC_{ENERGY} = stima dell'energia della cagliata; dCY_{CURD} = resa casearia giornaliera; dCY_{WATER} = ritenzione giornaliera di acqua e siero; dCY_{SOLIDS} = resa giornaliera in solidi.

Per ciascuna riga o parametro differenti lettere maiuscole indicano differenze statisticamente significative per $P < 0.001$. lettere minuscole per $P < 0.05$

Tabella 15 Confronto dei parametri dei sieropositivi e sieronegativi per CAEV

Parametri	Numero campioni	Unità di misura	Positivo	Negativo
dMY	1272	kg/giorno	1.84	1.85
dFPY	1272	g/giorno	137.90	145.76
grasso	1268	%	4.51	4.70
proteina	1268	%	3.60	3.67
lattosio	1268	%	4.58 ^A	4.66 ^B
ph	1268		6.71 ^a	6.72 ^b
NaCl	1272	mg/ 100 ml	257.96 ^a	247.09 ^b
SCS	1272	U	5.79 ^a	5.45 ^b
LBC	1253	U	1.73	1.87
RCT	1256	min	13.12	13.81
K ₂₀	1202	min	4.58	4.42
A ₃₀	1229	mm	34.12	34.95
A ₄₅	1254	mm	34.59	36.76
A ₆₀	1255	mm	27.02	27.93
RCT _{eq}	1256	min	13.89	14.74
K _{CF}	1256	%/min	19.20	17.75
K _{SR}	1237	%/min	0.72	0.61
CF _P	1256	mm	43.23	45.75
CF _{MAX}	1256	mm	38.26	40.48
T _{MAX}	1256	min	38.08	40.47
CY _{CURD}	1120	%	15.4	15.8
CY _{WATER}	1114	%	7.8	8.1
CY _{SOLID}	1120	%	7.7	7.8
REC _{FAT}	1120	%	80.60	80.43
REC _{PROTEIN}	1120	%	81.45	81.66
REC _{SOLID}	1120	%	55.69	55.86
REC _{ENERGY}	1120	%	66.26	66.34
dCY _{CURD}	560	kg/giorno	0.28	0.30
dCY _{WATER}	557	kg/giorno	0.14	0.15
dCY _{SOLIDS}	560	kg/giorno	0.13	0.14

dMY= daily milk yield (produzione giornaliera di latte; dFPY = produzione giornaliera di proteina e grasso; SCS = $\log_2(\text{SCC} \times 10^{-5}) + 3$; LBC = conta batterica logaritmica = $\log_{10}(\text{conta batterica totale}/1000)$; RCT = Rennet coagulation time (tempo intercorso tra l'aggiunta del caglio e l'apertura della campana; K₂₀= tempo necessario affinché la campana raggiunga un'ampiezza di 20 mm; A₃₀, A₄₅ e A₆₀= consistenza del coagulo a 30, 45, and 60 minuti rispettivamente dopo l'aggiunta del caglio; CF_P = forza potenziale asintotica del coagulo; K_{CF} = velocità istantanea di rassodamento; K_{SR} = velocità istantanea di sineresi; RCT_{eq} = tempo di coagulazione stimato dal tracciato; CF_{MAX} = forza massima realmente registrata dal coagulo; T_{MAX} = tempo al quale la consistenza massima viene raggiunta; CY_{CURD} = resa casearia; CY_{WATER} = ritenzione dell'acqua nella cagliata; CY_{SOLIDS} = resa in sostanza secca; REC_{FAT} = recupero percentuale di grasso nella cagliata; REC_{PROTEIN} = recupero di proteina nella cagliata; REC_{ENERGY} = stima dell'energia della cagliata; dCY_{CURD} = resa casearia giornaliera; dCY_{WATER} = ritenzione giornaliera di acqua e siero; dCY_{SOLIDS} = resa giornaliera in solidi.

Per ciascuna riga o parametro differenti lettere maiuscole indicano differenze statisticamente significative per $P < 0.001$. lettere minuscole per $P < 0.05$

Tabella 16 Confronto dei parametri dei sieropositivi e sieronegativi per MAP

Parametri	Numero campioni	Unità di misura	Positivo	Negativo
dMY	1272	kg/giorno	1.77	1.86
dFPY	1272	g/giorno	133.9	142.8
grasso	1268	%	4.38	4.64
proteina	1268	%	3.56	3.65
lattosio	1268	%	4.62	4.62
ph	1268		6.74	6.71
NaCl	1272	mg/ 100 ml	261.60	251.36
SCS	1272	U	5.48	5.66
LBC	1253	U	1.63	1.83
RCT	1256	min	13.14	13.50
K ₂₀	1202	min	4.39	4.53
A ₃₀	1229	mm	33.30	34.78
A ₄₅	1254	mm	33.90	35.95
A ₆₀	1255	mm	24.04	28.07
RCT _{eq}	1256	min	14.09	14.31
K _{CF}	1256	%/min	19.71	18.30
K _{SR}	1237	%/min	0.75	0.65
CF _P	1256	mm	42.97	44.68
CF _{MAX}	1256	mm	38.02	39.54
T _{MAX}	1256	min	37.77	39.46
CY _{CURD}	1120	%	15.2	15.7
CY _{WATER}	1114	%	8.0	8.0
CY _{SOLID}	1120	%	7.4	7.8
REC _{FAT}	1120	%	79.21	80.79
REC _{PROTEIN}	1120	%	81.69	81.52
REC _{SOLID}	1120	%	54.87	55.95
REC _{ENERGY}	1120	%	65.14	66.53
dCY _{CURD}	560	kg/giorno	0.27	0.29
dCY _{WATER}	557	kg/giorno	0.14	0.15
dCY _{SOLIDS}	560	kg/giorno	0.12	0.14

dMY= daily milk yield (produzione giornaliera di latte; dFPY = produzione giornaliera di proteina e grasso; SCS = $\log_2(\text{SCC} \times 10^{-5}) + 3$; LBC = conta batterica logaritmica = $\log_{10}(\text{conta batterica totale}/1000)$; RCT = Rennet coagulation time (tempo intercorso tra l'aggiunta del caglio e l'apertura della campana; K₂₀= tempo necessario affinché la campana raggiunga un'ampiezza di 20 mm; A₃₀, A₄₅ e A₆₀= consistenza del coagulo a 30, 45, and 60 minuti rispettivamente dopo l'aggiunta del caglio; CF_P = forza potenziale asintotica del coagulo; K_{CF} = velocità istantanea di rassodamento; K_{SR} = velocità istantanea di sineresi; RCT_{eq} = tempo di coagulazione stimato dal tracciato; CF_{MAX} = forza massima realmente registrata dal coagulo; T_{MAX} = tempo al quale la consistenza massima viene raggiunta; CY_{CURD} = resa casearia; CY_{WATER} = ritenzione dell'acqua nella cagliata; CY_{SOLIDS} = resa in sostanza secca; REC_{FAT} = recupero percentuale di grasso nella cagliata; REC_{PROTEIN} = recupero di proteina nella cagliata; REC_{ENERGY} = stima dell'energia della cagliata; dCY_{CURD} = resa casearia giornaliera; dCY_{WATER} = ritenzione giornaliera di acqua e siero; dCY_{SOLIDS} = resa giornaliera in solidi.

Per ciascuna riga o parametro differenti lettere maiuscole indicano differenze statisticamente significative per $P < 0.001$. lettere minuscole per $P < 0.05$

Tabella 17 Confronto dei parametri dei sieropositivi e sieronegativi per CpHV1

Parametri	Numero campioni	Unità di misura	Positivo	Negativo
Stato sanitario	Numero campioni	Unità di misura	Positivo	Negativo
dMY	1272	kg/giorno	1.33	1.99
dFPY	1272	g/giorno	0.11	0.14
Grasso	1268	%	5.14	4.45
Proteina	1268	%	3.9	3.55
Lattosio	1268	%	4.61	4.61
Ph	1268		6.69	6.72
NaCl	1272	mg/ 100 ml	241.68	255.98
SCS	1272	U	6.39	5.45
LBC	1253	U	1.81	1.79
RCT	1256	min	13.86 ^a	13.33 ^b
K ₂₀	1202	min	3.76	4.71
A ₃₀	1229	mm	38.35	33.43
A ₄₅	1254	mm	39.11	34.63
A ₆₀	1255	mm	33.97	25.66
RCT _{eq}	1256	min	14.70	14.17
K _{CF}	1256	%/min	19.15	18.34
K _{SR}	1237	%/min	0.65	0.67
CF _P	1256	mm	48.04	43.39
CF _{MAX}	1256	mm	42.51	38.40
T _{MAX}	1256	min	38.08	39.51
CY _{CURD}	1120	%	17.1	15.3
CY _{WATER}	1114	%	8.4	7.9
CY _{SOLID}	1120	%	8.7	7.5
REC _{FAT}	1120	%	82.96	79.97
REC _{PROTEIN}	1120	%	81.59	81.55
REC _{SOLID}	1120	%	58.38	55.19
REC _{ENERGY}	1120	%	69.09	65.67
dCY _{CURD}	560	kg/giorno	0.22	0.30
dCY _{WATER}	557	kg/giorno	0.11	0.16
dCY _{SOLIDS}	560	kg/giorno	0.11	0.15

dMY= daily milk yield (produzione giornaliera di latte; dFPY = produzione giornaliera di proteina e grasso; SCS = $\log_2(\text{SCC} \times 10^{-5}) + 3$; LBC = conta batterica logaritmica = $\log_{10}(\text{conta batterica totale}/1000)$; RCT = Rennet coagulation time (tempo intercorso tra l'aggiunta del caglio e l'apertura della campana; K₂₀= tempo necessario affinché la campana raggiunga un'ampiezza di 20 mm; A₃₀, A₄₅ e A₆₀= consistenza del coagulo a 30, 45, and 60 minuti rispettivamente dopo l'aggiunta del caglio; CF_P = forza potenziale asintotica del coagulo; K_{CF} = velocità istantanea di rassodamento; K_{SR} = velocità istantanea di sineresi; RCT_{eq} = tempo di coagulazione stimato dal tracciato; CF_{MAX} = forza massima realmente registrata dal coagulo; T_{MAX} = tempo al quale la consistenza massima viene raggiunta; CY_{CURD} = resa casearia; CY_{WATER} = ritenzione dell'acqua nella cagliata; CY_{SOLIDS} = resa in sostanza secca; REC_{FAT} = recupero percentuale di grasso nella cagliata; REC_{PROTEIN} = recupero di proteina nella cagliata; REC_{ENERGY} = stima dell'energia della cagliata; dCY_{CURD} = resa casearia giornaliera; dCY_{WATER} = ritenzione giornaliera di acqua e siero; dCY_{SOLIDS} = resa giornaliera in solidi.

Per ciascuna riga o parametro differenti lettere maiuscole indicano differenze statisticamente significative per $P < 0.001$. lettere minuscole per $P < 0.05$

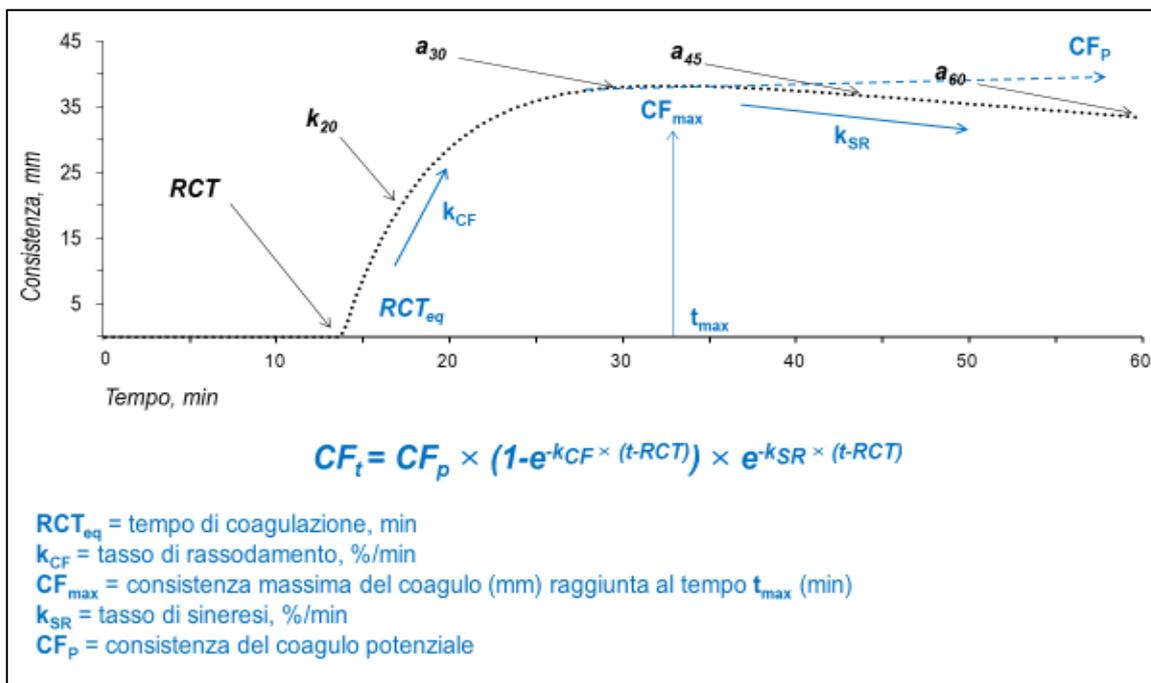


Grafico 1 Parametri lattodinamografici classici e modellizzati

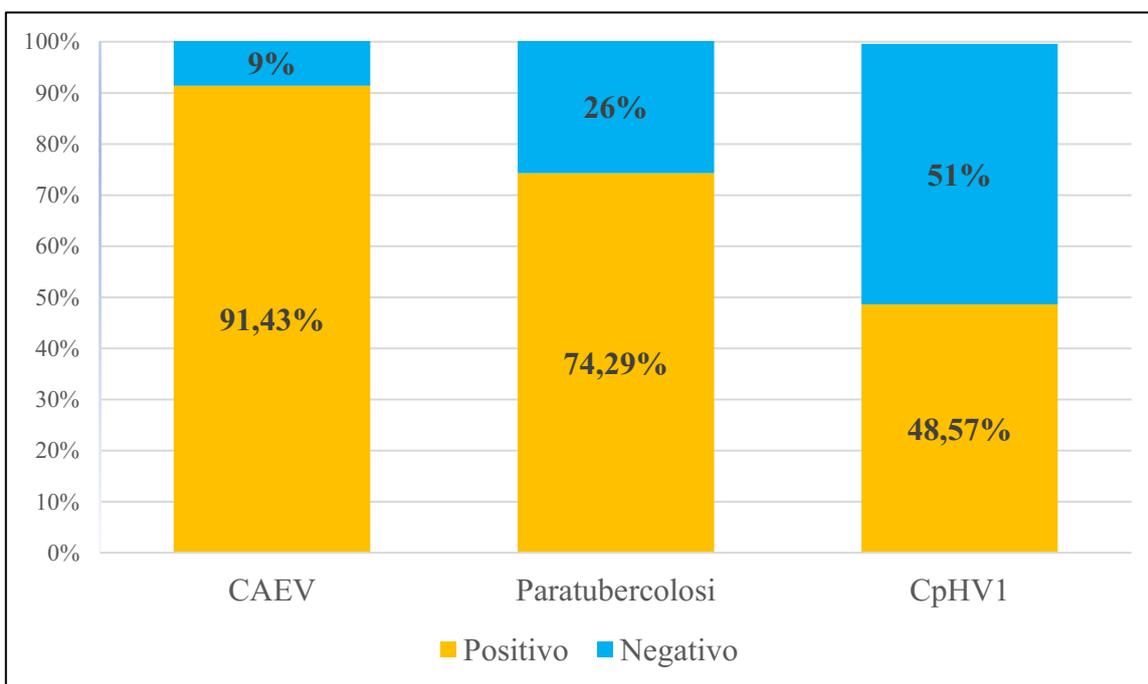


Grafico 2 Allevamenti con positività sierologiche per CAEV, MAP e CpHV1

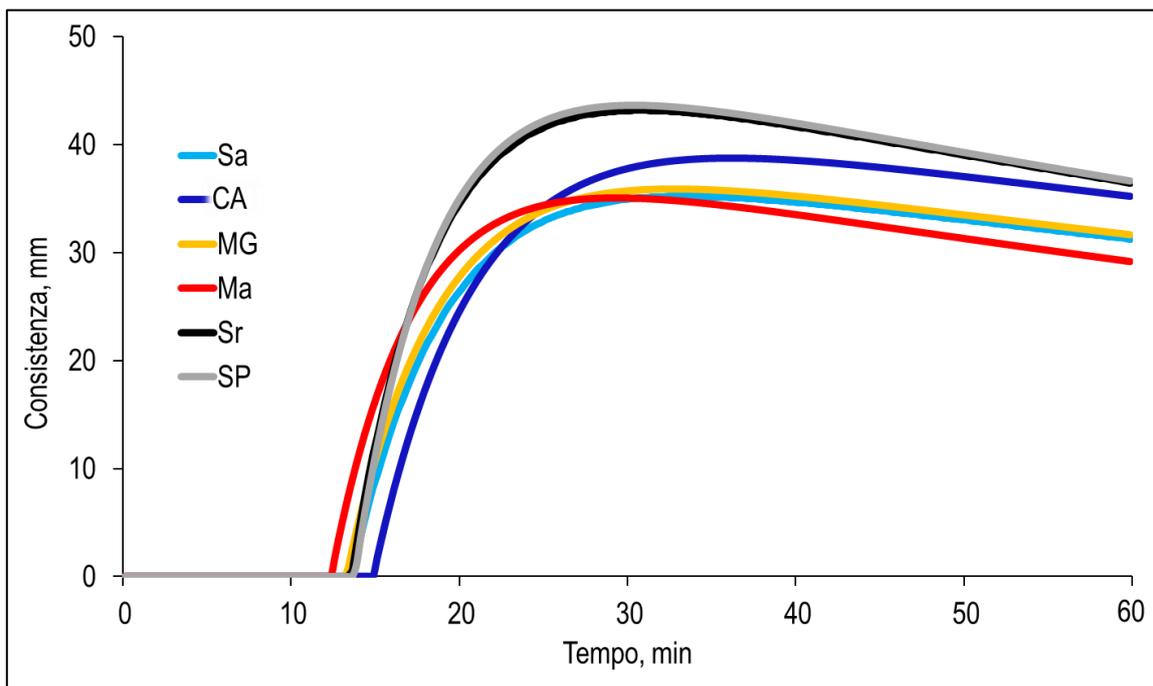


Grafico 3 Comparazione dei traccati lattodinamografici delle razze oggetto dello studio. Saanen (Sa), Camosciata della Alpi (CA), Murciano-Granadina (MG), Maltese (Ma), Sarda (Sr) e Sarda Primitiva (SP).

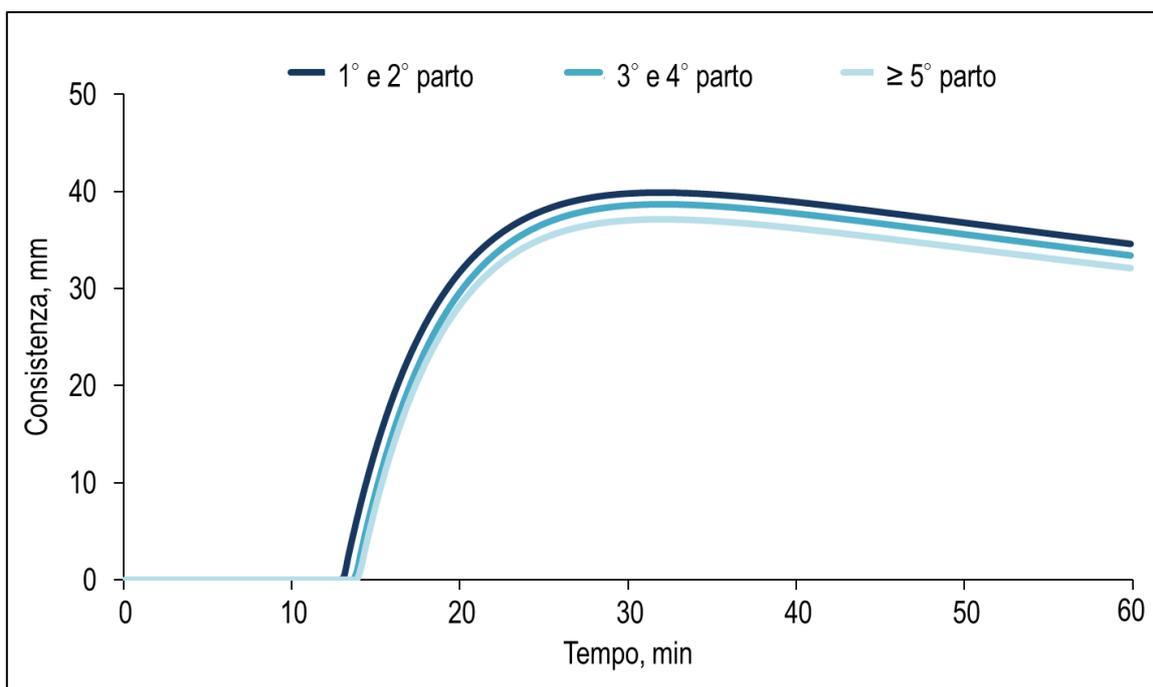


Grafico 4 Confronto dei traccati lattodinamografici per ordine di parto

Bibliografia

- Ambrosoli R., Di Stasio L, Mazzocco P., «Content of alpha S1-casein and coagulation properties in goat milk.» *Journal of Dairy Science*, 1988: 71, 24-8.
- Andreani E., Flammini C.F., Gentile G., Mandelli G. «Retroviridae.» In *Trattato di malattie infettive degli animali*, di Scatozza F., Farina S., 745-804. Utet, 2004.
- Arrigoni N. «Paratuberculosis: aggiornamento sulla situazione mondiale e sui possibili aspetti zoonotici.» 8° Congresso Nazionale sulla Paratuberculosis. Bologna, 4 dicembre 2018.
- Arsenault J., Dubreuil P., Girard C., Simard C., Bélanger D. «Maedi-visna impact on productivity in Quebec sheep flocks (Canada).» *Preventive Veterinary Medicine*, 2003: 59, 125-37.
- Banks J.M. «Cheese yield.» In *Cheese problem solved*, di McSweeney P.L.H., 100-114. Woodhead Publishing Ltd., 2007.
- Barquero N., Gomez-Lucia E., Arjona A., Toural C., Heras Al., Fernández-Garayzabal J.F., Domenech A. «Evolution of specific antibodies and proviral DNA in milk of small ruminants infected by small ruminant lentivirus.» *Viruses*, 2013: 10, 2614-2623.
- Barrero Domínguez B., Luque I., Maldonado A., Huerta B., Sánchez M., Gomez Laguna J., Astorga R. «Seroprevalence and risk factors of exposure to caprine arthritis-encephalitis virus in southern Spain.» *Veterinary Record*, 2017: 9, 226.
- Bastida F., Juste R.A., «Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination.» *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines*, 2011: 9,8.
- Bauman C., Bitton A.J., Menzies P., Toft N., Jansen J., Kelton D. «Prevalence of paratuberculosis in the dairy goat and dairy sheep industries in Ontario, Canada.» *The Canadian Veterinary Journal*, 2016: 2,169-175.
- Baydin M. O., Dagalp B.L., «Investigation of the seroprevalence of BoHV-1 and CpHV-1 infections using gB/gE ELISA combination and VNT in selected goat flocks.» *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2017: 64, 329-335.
- Beaver A., Sweeney R.W., Hovingh E., Wolfgang D.R., Gröhn Y.T., Schukken Y.H. «Longitudinal relationship between fecal culture, fecal quantitative PCR, and milk ELISA in *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis-infected cows from low-prevalence dairy herds.» *Journal of Dairy Science*, 2017: 9, 7507-7521.

- Belletti G., Arrigoni N., Cammi G., Taddei R., Pravettoni D., Belloli A., Tamba M., «Diagnosi di paratubercolosi bovina: valutazione di un test elisa del commercio su siero e latte di animali infetti in forma subclinica.» VI Congresso Nazionale S.I.Di.L.V. (Società Italiana di Diagnostica di Laboratorio Veterinaria). Abano Terme, 2004. 167-168.
- Bertolotti L., Rosamilia A., Profiti M., Brocchi E., Masoero L., Franceschi V., Tempesta M., Donofrio G., Rosati S., «Characterization of caprine herpesvirus 1 (CpHV1) glycoprotein E and glycoprotein I ectodomains expressed in mammalian cell.» *Veterinary Microbiology*, 2008: 164, 222-228.
- Bittante G., Contiero G., Cecchinato A., «Prolonged observation and modelling of milk coagulation, curd firming, and syneresis.» *International Dairy Journal*, 2003: 29, 115-123.
- Bittante G., Cipolat-Gotet C., Malchiodi F., Sturaro E., Tagliapietra F., Schiavon S., Cecchinato A., «Effect of dairy farming system, herd, season, parity, and days in milk on modeling of the coagulation, curd firming, and syneresis of bovine milk. » *Journal of Dairy Science*, 2015: 98, 2759–2774
- Blacklaws B.A., Berriatua E., Torsteinsdottir S., Watt N.J., de Andres D., Klein D., Harkiss G.D. «Transmission of small ruminant lentiviruses.» *Veterinary Microbiology*, 2004: 101, 199-208.
- Brenzoni L.G. «Piano di controllo e certificazione nei confronti della.» 7° Congresso Nazionale sulla Paratubercolosi. Piacenza, 2015.
- Brinkhof J.M., Houwers D.J., Moll L., Dercksen D., van Maanen C. «Diagnostic performance of ELISA and PCR in identifying SRLV-infected sheep and goats using serum, plasma and milk samples and in early detection of infection in dairy flocks through bulk milk testing.» *Veterinary Microbiology*, 2010: 142, 193-198.
- Brown C., Baker D., Barker K. «Alimentary system.» In *Pathology of Domestic Animals Vol II*, di Kennedy P.C., Palmer N. Jubb K., 1- 296. Elsevier, 2007.
- Buonavoglia C., Tempesta M., Cavalli A., Voigt V., Buonavoglia D., Conserva A., Corrente M., «Reactivation of caprine herpesvirus 1 in latently infected goats.» *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 1996: 19, 275-281.
- C.Cipolat-Gotet C., Cecchinato A. , Stocco G., Bittante G. «The 9-MilCA method as a rapid, partly automated protocol for simultaneously recording milk coagulation, curd firming, syneresis, cheese yield, and curd nutrients recovery or whey loss.» *Journal of Dairy Science*, 2016: 99, 1065-1082.

- Camero M., Buonavoglia D., Lucente M.S., Losurdo M., Crescenzo G., Trerotoli P., Casalino E., Martella V., Elia G., Tempesta M. «Enhancement of the antiviral activity against caprine herpesvirus type 1 of Acyclovir in association with Mizoribine.» *Research in Veterinary Science*, 2017: 111:120-123.
- Cecchi F., Russo C., Iamartino D., Galiero A., Turchi B., Fratini F., Degl'Innocenti S., Mazza R., Biffani S., Preziuso G., Cantile C., «Identification of candidate genes for paratuberculosis resistance in the native Italian Garfagnina goat breed.» *Tropical Animal Health and Production*, 2017: 49, 1135-1142.
- Chénier S., Montpetit C., Hélie P., «Caprine herpesvirus- 1 abortion storm in a goat herd in Quebec.» *Canadian Veterinary Journal*, 2004: 45, 241-243.
- Ciappesoni G., Pribyl J., Milerski M., Mares V., «Factors affecting goat milk yield and its composition.» *Czech Journal of Animal Science*, 2004: 49, 465–473.
- Cipolat-Gotet C., Pazzola M., Ferragina A., Cecchinato A., Dettori M.L., Vacca G.M. «Technical note: Improving modeling of coagulation, curd firming, and syneresis of sheep milk. » *Journal of Dairy Science*, 2018: 101:1–6
- Clark S., Sherbon W., «Alpha s1-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk.» *Small Ruminant Research*, 2000: 38: 123-124.
- Cocito C., Gilot P., Coene M. «Paratuberculosis.» *Clinical Microbiology Reviews*, 1994: 7. 328-345.
- Collins D.M., Gabric D.M., De Lisle G.W. «Identification of a repetitive DNA sequence specific to *Mycobacterium paratuberculosis*.» *FEMS Microbiology Letters*, 1989: 51, 175-178.
- Collins M.T. «Paratuberculosis: review of present knowledge.» *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2003: 44, 217-221.
- Crespo H., Bertolotti L., Proffiti M., Cascio P., Cerruti F., Acutis P.L., de Andrés D., Reina R., Rosati S. «Low proviral small ruminant lentivirus load as biomarker of natural restriction in goats.» *Veterinary Microbiology*, 2016: 192, 152-162.
- de Andres D., Klein, D., Watt N.J., Berriatua E., Torsteinsdottir S., Blacklaws B.A., Harkiss G.D. «Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses.» *Veterinary Microbiology*, 2005: 107, 49-62.
- de Andrés X., Ramírez H., Bertolotti L., San Román B., Glaria I. , Crespo H. «An insight into a combination of ELISA strategies to diagnose small ruminant lentivirus infections.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2013: 152, 277-288.

- Donofrio G., Franceschi V., Lovero A., Capocefalo A., Camero M., Losurdo M., Cavarani S., Marinaro M., Grandolfo E., Buonavoglia C., Tempesta M., «Clinical Protection of Goats against CpHV-1 Induced Genital Disease with a BoHV-4-Based Vector Expressing.» *Plos One*, 2013: 8, e52758.
- Dulin A.M., Paape M.J., Schultze W.D., Weinland B.T., «Effect of Parity, Stage of Lactation, and Intramammary Infection on Concentration of Somatic Cells and Cytoplasmic Particles in Goat Milk.» *Journal of Dairy Science*, 1983: 66: 2426-2433.
- Elia G., Tarsitano E., Camero M., Bellacicco A.L., Buonavoglia D., Campolo M., Decaro N., Thiry J., Tempesta M., «Development of a real-time PCR for the detection and quantitation of caprine herpesvirus 1 in goats.» *Journal of Virological Methods*, 2008: 148, 155-160.
- Garcia A.B., Shalloo L. «Invited review: The economic impact and control of paratuberculosis in cattle.» *Journal of Dairy Science*, 2015: 98, 5019-5039.
- Gjerset B., Rimstad E., Teige J., Soetaert K., Jonassen C.M. «Impact of natural sheep-goat transmission on detection and control of small ruminant lentivirus group C infections.» *Veterinary Microbiology*, 2009: 135, 231-8.
- González J., Geijo M.V., García-Pariente C., Verna A., Corpa J.M., Reyes L.E., Ferreras M.C., Juste R.A., García Marín J.F., Pérez V., «Histopathological classification of lesions associated with natural paratuberculosis infection in cattle.» *Journal of Comparative Pathology*, 2005: 133, 184-196.
- Greenwood P.L. «Effects of caprine arthritis-encephalitis virus on productivity and health of dairy goats in New South Wales, Australia.» *Preventive Veterinary Medicine*, 1995: 22, 71-87.
- Guercio A., Greco G., Lanizzoto G., Di Marco V., Todaro M. «Valutazione Della Diffusione Di Anticorpi Anti Herpes Virus Della Capra in Allevamenti Caprini Della Sicilia.» *Atti SIPAOC (Società Italiana di Patologia e di Allevamento degli Ovini e dei Caprini)*. 1998. 138–142.
- Hendrick S.H., Kelton D.F., Leslie K.E., Lissemore K.D., Archambault M., Duffield T.F., «Effect of paratuberculosis on culling, milk production, and milk quality in dairy herds.» *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2005: 227, 1302–1308.
- Highland M.A. «Small Ruminant Lentiviruses: Strain Variation, Viral Tropism, and Host Genetics Influence Pathogenesis.» *Veterinary Pathology*, 2017: 54, 353-354.
- Juste R.A., Perez V. «Control of paratuberculosis in sheep and goats.» *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2011: 27, 127-138.

- Kaba J., Strzalkowska N., Jozwik A., Krzyzewski J., Bagnicka E. «Twelve-year cohort study on the influence of caprine arthritis-encephalitis.» *Journal of Dairy Science*, 2012: 95, 1617–1622.
- Khol J.L., Kralik P., Slana I., Beran V., Aurich C., Baumgartner W., Pavlik I., «Consecutive excretion of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in semen of a breeding bull compared to the distribution in feces, tissue and blood by IS900 and F57 quantitative real-time PCR and culture examinations.» *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2010: 72, 1283-1288.
- Kudahl A.B., Nielsen S.S., «Effect of paratuberculosis on slaughter weight and slaughter value of dairy cows.» *Journal of Dairy Science*, 2009: 92, 4340-4346.
- Leitner G., Krifucks O., Weisblit L., Lavi Y., Bernstein S., Merin U. «The effect of caprine arthritis encephalitis virus infection on production in goats.» *The Veterinary Journal*, 2010: 183, 328–331.
- Luini M., Foglia E., Andreoli G., Tamba M., Arrigoni N. «Piano di controllo e certificazione per la paratuberculosis bovina: criteri e analisi costo-beneficio.» *Large Animal Review*, 2013: 19, 1-10.
- Mandelli G., Scanziani E., «Canale Digerente.» In *Trattatodi Anatomia Patologica*, di Mandelli G., Guarda F., 189-301. Utet, 2008.
- Marchetti G., Coccollone A., Giacometti F., Serraino A., Riu R., «*Mycobacterium avium* susp. paratuberculosis in dairy production.» *Italian Journal of Food Safety*, 2012: 1, 7.
- Marinaro M., Rezza G., Del Giudice G., Colao V., Tarsitano E., Camero M., Losurdo M., Buonavoglia C., Tempesta M., «A caprine herpesvirus 1 vaccine adjuvanted with MF59™ protects against vaginal infection and interferes with the establishment of latency in goats.» *PLOS ONE*, 2012: 7, e34913.
- Martínez Navalón B., Peris Ribera C., Roche Julián M. L., Caballero Galván C. «Efectos del virus de la artritis-encefalitis caprina sobre la producción y composición de la leche en cabras murciano-granadinas.» *Pequeños Rumiantes*, 2002: 3, 26-27.
- Martínez-Navalón B., Peris C., Gómez E.A., Peris B., Roche M.L., Caballero C., Goyena E., Berriatua E. «Quantitative estimation of the impact of caprine arthritis encephalitis virus infection on milk production by dairy goats.» *Veterianry journal*, 2013: 197, 311-317.
- Martins G.R., Marinho R.C., Junior R.Q., Alves A.O., Câmara L.M., Albuquerque-Pinto L.C., Teixeira M.F., «Goat umbilical cord cells are permissive to small ruminant lentivirus infection in vitro.» *Brazilian Journal of Microbiology*, 2017: 48, 125-131.

- Mazzei M., Bertolotti L., Reina R., Preziuso S., Camero M., Carrozza M.L., Cavalli A., Juganaru M., Profiti M., De Meneghi D., Perona G., Renzoni G., Tursi M., Bertoni G., Rosati S. «Small ruminant lentivirus genotype B and E interaction: evidences on the role of Roccaverano strain on reducing proviral load of the challenging CAEV strain.» *Veterinary Microbiology*, 2013: 163, 33-41.
- McAloon C.G., Whyte P., More S.J., Green M.J., O'Grady L., Garcia A., Doherty M.L., «The effect of paratuberculosis on milk yield—A systematic review and meta-analysis.» *Journal of Dairy Science*, 2016: 99, 1449-1460.
- Mercier P., Baudry C., Beaudeau F., Seegers H., Malher X., «Estimated prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection in herds of dairy goats in France.» *Veterinary Record*, 2010: 167, 412-415.
- Minguijón E., Reina R., Pérez M., Polledo L., Villoria M., Ramírez H., Leginagoikoa I., Badiola J.J., García-Marín J.F., de Andrés D., Luján L., Amorena B., Juste R.A. «Small ruminant lentivirus infections and diseases.» *Veterinary Microbiology*, 2015: 181, 75–89.
- Montagnaro S., Ciarcia R., De Martinis C., Pacilio C., Sasso S., Puzio M.V., De Angelis M., Pagnini U., Boffo S., Kenez I., Iovane G., Giordano A., «Modulation of apoptosis by caprine herpesvirus 1 infection in a neuronal cell line.» *Journal of Cellular Biochemistry*, 2013: 114, 2809-2822.
- Mselli-Lakhal L., Guiguen F., Fornazero C., Du J., Favier C., Durand J., Grezel D., Balleydier S., Mornex J.F., Chebloune Y., «Goat Milk Epithelial Cells Are Highly Permissive to CAEV Infection in Vitro.» *Virology*, 1999: 259, 67-73.
- Nielsen S. S., Grønbaek, C., Agger, J. F., Houe, H. «Maximum-likelihood estimation of sensitivity and specificity of ELISAs and faecal culture for diagnosis of paratuberculosis.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2002: 53, 191-204.
- Nord K., Ådnøy T. «Effects of Infection by Caprine Arthritis-Encephalitis Virus on Milk Production of Goats.» *Journal of Dairy Science*, 1997: 80, 2391–2397.
- NRC. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. Washington DC: ed. Natl. Acad. Press, 2007.
- Pagnini U., Montagnaro S., Sanfelice di Monteforte E., Pacelli F., De Martino L., Roperto S., Florio S., Iovane G. «CapHV1 induces apoptosis in goat peripheral blood mononuclear cells.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2005: 103, 283-293.
- Park H.T., Yoo H.S., «Development of vaccines to *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection.» *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 2016: 5, 108-116.

- Patel J.R., Didlick S., «Epidemiology, disease and control of infections in ruminants by herpesviruses – An overview.» *Journal of the South African Veterinary Association*, 2008: 79, 8-14.
- Pazzola M. «Coagulation Traits of Sheep and Goat Milk.» *Animals*, 2019: 9, 540-548.
- Peterhans E., Greenland T., Badiola J., Harkiss G., Bertoni G., Amorena B., Eliazewicz M., Juste R.A., Krassnig R., Lafont J.P., Lenihan P., Pétursson G., Pritchard G., Thorley J., Vitu C., Mornex J.F., Pépin M. «Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes.» *Veterinary Research*, 2004: 35, 257-74.
- Piper K.L., Fitzgerald C.J., Ficorilli N., Studdert M.J. «Isolation of caprine herpesvirus 1 from a major outbreak of infectious pustular vulvovaginitis in goats.» *Australian Veterinary Journal*, 2008: 86, 136-138.
- Poli G. «Diagnostica sierologica, le reazioni antigene - anticorpo in vitro .» In *Microbiologia e Immunologia Veterinaria*, di Cocilovo A. Poli G., 643-668. Utet, 2002.
- Ponti W. «Classificazione dei Virus e Virologia speciale.» In *Microbiologia e Immunologia Veterinaria*, di Cocilovo A. Poli G., 421-483. Utet, 2002.
- Pozzato N. «Approcci diagnostici sperimentali: Luminex, Metabolomica, microRNA.» 7° congresso nazionale sulla paratubercolosi. Piacenza, 2015.
- Redaelli G. «Mycobacterium.» In *Trattato di malattie infettive degli animali*, di Scatozza F., Farina S., 303-327. Utet, 2002.
- Reina R., Berriatua E., Luján L., Juste R., Sánchez A., de Andrés D., Amorena B., «Prevention strategies against small ruminant lentiviruses: An update.» *The Veterinary Journal*, 2009: 182, 31–37.
- Reina, R., Bertolotti, L., Dei Giudici, S., Puggioni, G., Ponti, N., Profiti, M., Patta, C., Rosati, S. «Small ruminant lentivirus genotype E is widespread in Sarda goat.» *Veterinary Microbiology*, 2010: 144, 24–31.
- Rola J.G., Larska M., Grzeszuk M., Rola J., «Association between antibody status to bovine herpesvirus 1 and quality of milk in dairy herds in Poland.» *Journal of Dairy Science*, 2015: 98, 781-789.
- Sánchez A., Contreras A., Corrales J.C., Marco J.C. «Relationships between infection with caprine arthritis encephalitis virus, intramammary bacterial infection and somatic cell counts in dairy goats.» *Veterinary record*, 2001: 148, 711-714.

- Santos B.P., Souza F. N., Blagitz M.G., Batista C.F., Bertagnon H., Diniz S.A., Silva M.X., Haddad J.P., Paiva Della Libera A.M.M. «Blood and milk polymorphonuclear leukocyte and monocyte/macrophage functions in naturally caprine arthritis encephalitis virus infection in dairy goats.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2017: 188, 21–26.
- Sardaro R., Pieragostini E., Rubino G., Petazzi F. «Impact of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis on profit efficiency in semi-extensive dairy sheep and goat farms of Apulia, southern Italy.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2017: 136, 56-64.
- Scatozza F., Papparella V. «Herpesviridae.» In *Trattato di malattie infettive degli animali*, di Scatozza F. Farina R., 509-545. Utet, 2004.
- Schynts F., Keuser V., Detry B., Collard A., Robert B., Vanderplasschen A., Pastoret P.-P., Thiry E., «Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine caprine cervine alpha herpesvirus.» *Journal of Clinical Microbiology*, 2004: 42, 1228–1235.
- Silva M.L., Pituco E.M., Nogueira A.H., Martins M.S., Lima M.S., de Azevedo S.S. «Serological evidence and risk factors associated with Caprine herpesvirus 1 in dairy goat flocks in a semiarid region of northeastern Brazil.» *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2013: 25, 125-128.
- Stocco G., Cipolat-Gotet C., Bobbo T., Cecchinato A., Bittante G., «Breed of cow and herd productivity affect milk composition and modeling of coagulation, curd firming, and syneresis.» *Journal of Dairy Science*, 2017: 100, 129-145.
- Suavet F., Champion J.L., Bartolini L., Bernou M., Alzieu J.P., Brugidou R., Darnatigues S., Reynaud G., Perrin C., Adam G., Thiéry R., Duquesne V. «First Description of Infection of Caprine Herpesvirus 1 (CpHV-1) in Goats in Mainland France.» *Pathogens*, 2016: 5, 17.
- Tariba B., Kostelić A., Roić B., Benić M., Šalamon D. «Influence of Caprine Arthritis Encephalitis Virus infection on milk production of French Alpine goats in Croatia.» *Mljekarstvo*, 2017: 67, 42-48.
- Tempesta M., Greco G., Pratelli A., Buonavoglia D., Camero M., Martella V., Buonavoglia C., «Reactivation of caprine herpesvirus 1 in experimentally infected goats.» *Veterinary Record*, 2002: 150, 116–117.
- Thiry J., Tempesta M., Camero M., Tarsitano E., Muylkens B., Meurens F., Thiry E., Buonavoglia C., «Clinical protection against caprine herpesvirus 1 genital infection by intranasal administration of a live attenuated glycoprotein E negative bovine herpesvirus 1 vaccine.» *BMC Veterinary Research*, 2007: 3, 33.

- Travassos C., Benoit C., Valas S. da Silva, A., Perrin G. «Detection of caprine arthritis encephalitis virus in sperm of experimentally infected bucks.» *Veterinary Research*, 1998: 29, 579–584.
- Turin L., Pisoni G., Giannino M.L., Antonini M., Rosati S., Ruffo G., Moroni P. «Correlation between milk parameters in CAEV seropositive and negative primiparous goats during an eradication program in Italian farm.» *Small Ruminant Research*, 2005: 57, 73–79.
- Uzal F.A., Woods L., Stillian M., Nordhausen R., Read D.H., Van Kampen H., Odani J., Hietala S., Hurley E.J., Vickers M.L., Gard SM. «Abortion and ulcerative posthitis associated with caprine herpesvirus-1 infection in goats in California.» *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2004: 16, 478-484.
- Uzoigwe J.C., Khaitza M.L., Gibbs P.S., «Epidemiological evidence for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* as a cause of Crohn's disease.» *Epidemiology & Infection*, 2007: 135, 1057–1068.
- Villoria M., Leginagoikoa I., Luján L., Pérez M., Salazar E., Berriatua E., Juste R.A., Minguijón E. «Detection of Small Ruminant Lentivirus in environmental samples of air and water.» *Small ruminant research*, 2013: 110, 155-160.
- White S.N., Knowles D.P. «Expanding possibilities for intervention against small ruminant lentiviruses through genetic marker-assisted selective breeding.» *Viruses*, 2013: 5, 1466-1499.
- Windsor P.A. «Paratuberculosis in sheep and goats.» *Veterinary Microbiology*, 2015: 181:161-169.
- World Organization for Animal Health. «Maedi-visna e Caprine arthritis/encephalitis , OIE - Chapter 2.7.3/4.» 2019. <https://www.oie.int> (consultato il giorno 08 31, 2019).
- World Organization for Animal Health.. «Paratubercolosi, OIE - Chapter 2.01.15.» 2019. <https://www.oie.int> (consultato il giorno 08 31, 2019).
- Zeng S.S., Escobar E.N., «Effect of breed and milking method on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk.» *Small Ruminant Research*, 1995: 17, 2245-2259.