



**Terza Giornata dei Centri e dei Laboratori di riferimento Nazionali
degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali nell'ottica One Health**
Roma – Ministero della Salute – 1 dicembre 2025



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

LA NOSTRA
ESPERIENZA,
LA VOSTRA
SICUREZZA.

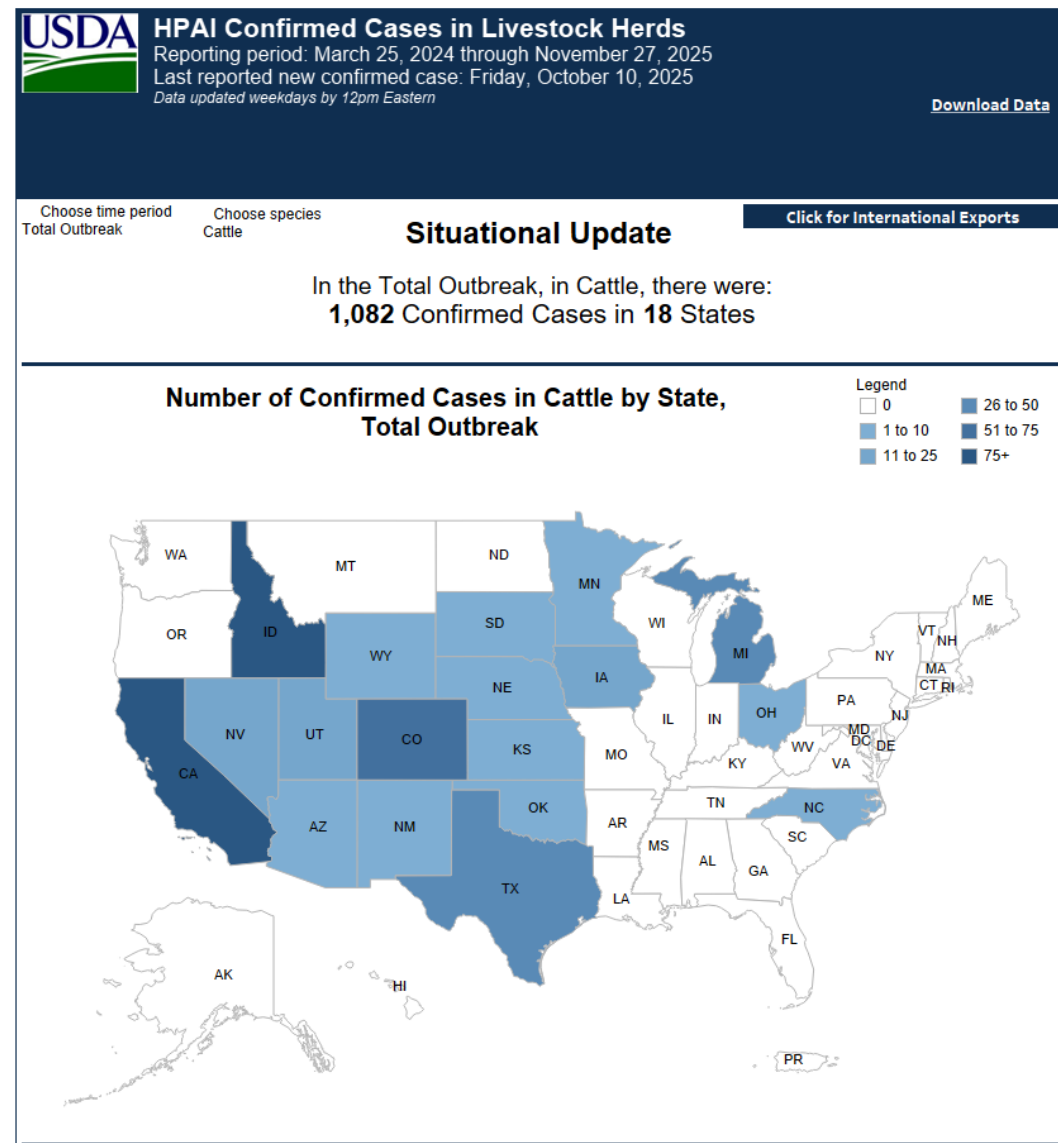
Influenza aviare e prodotti a base di latte

Ana Moreno



H5N1 HPAIV clade 2.3.4.4b nei bovini

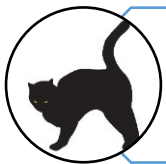
- Derivano da A/Goose/Guangdong/1/1996 (GsGd) H5N1
- **Clade 2.3.4.4b**, dominante in tutto il mondo dal 2021
- In 2024, **H5N1 HPAIV infezioni rilevate in bovine in lattazione in U.S** (1082 casi in 18 stati).
- H5N1 clade 2.3.4.4b genotipo **B3.13**. Da gennaio 2025: **D1.1**
- Infezione **asintomatica o sintomatica** con scarso appetito, ridotta produzione di latte e aspetto anomalo del latte (ispessito, scolorito).
- Le vacche in lattazione sono state le più colpite e i segni di malattia sono stati segnalati in meno del 10% delle vacche di una mandria.
- **Forte affinità del virus** per il tessuto **della ghiandola mammaria**
- **Elevati titoli virali nel latte**



<https://www.aphis.usda.gov/livestock-poultry-disease/avian/avian-influenza/hpai-detections/hpai-confirmed-cases-livestock>



Sicurezza alimentare



Infezioni letali da H5N1 nei gatti da allevamento che hanno consumato latte crudo proveniente da mucche infette



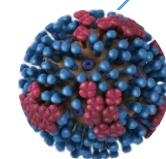
Nel periodo aprile-maggio 2024, oltre **un terzo dei campioni di latte pastorizzato** venduto al dettaglio proveniente da 12 stati degli Stati Uniti conteneva frammenti genetici di H5N1 (Spackman et al. 2024).



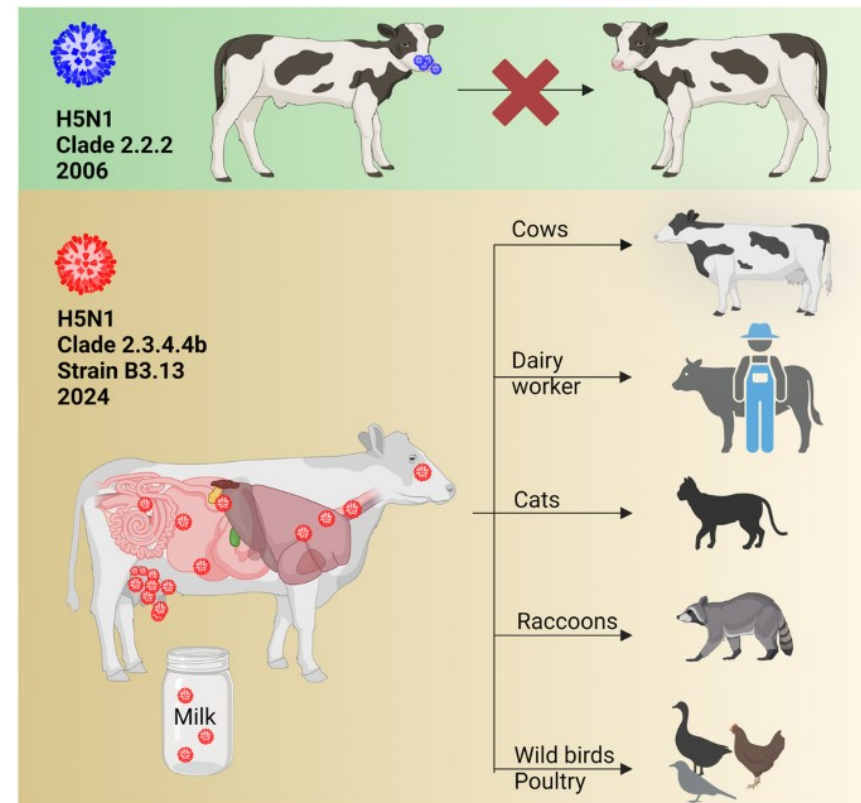
Applicato in US un **piano nazionale di monitoraggio del latte**.
Controllo dei campioni di latte crudo provenienti dai silos degli impianti di lavorazione del latte a livello nazionale.



Diversi studi hanno dimostrato che la **pastorizzazione** è il metodo più efficace per inattivare i virus dell'influenza aviaria (AIV) nel latte e nei prodotti lattiero-caseari.



Ad oggi, i dati sul comportamento e l'inattivazione dei virus dell'influenza A durante la produzione tradizionale di formaggio con latte crudo sono limitati.



Abdelwhab, E.M., Beer, M. *npj Viruses* 2, 22 (2024).
<https://doi.org/10.1038/s44298-024-00039-z>



Ministero della Salute
Dr. Nicola Santini



Regione Emilia-Romagna

Dr. Stefano Benedetti
Dr. Luisa Piccolomini
Dr. Anna Padovani
Dr. Alfonso Rosamilia



SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA
Azienda Unità Sanitaria Locale di Parma

Dr. Pierantoni



Dr. Ana Moreno
Dr. Paolo Daminelli
Dr. Giuseppe Merialdi
Dr. Stefano Pongolini
Dr. Franco Paterlini
Dr. Giovanni Alborali
Dr. Giorgio varisco



Dr. Giovanni Cattoli
Dr. Calogero Terregino



viruses



Article

Inactivation of Influenza A Viruses (H1N1, H5N1) During Grana-Type Raw Milk Cheesemaking: Implications for Foodborne Transmission Risk

Ana Moreno ^{1,*} , Stefano Pongolini ¹, Giuseppe Merialdi ¹, Giovanni Cattoli ², Calogero Terregino ², Nicola Santini ³, Stefano Benedetti ⁴, Luisa Loli Piccolomini ⁴, Anna Padovani ⁴, Alfonso Rosamilia ¹ , Giovanni Loris Alborali ¹ and Paolo Daminelli ¹

- ¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale of Lombardy and Emilia-Romagna, Via Bianchi 9, 25124 Brescia, Italy; stefano.pongolini@izsler.it (S.P.); giuseppe.merialdi@izsler.it (G.M.); alfonso.rosamilia@izsler.it (A.R.); giovannialborali@izsler.it (G.L.A.); paolo.daminelli@izsler.it (P.D.)
 - ² Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro, Italy; gcattoli@izsvenezie.it (G.C.); cterregino@izsvenezie.it (C.T.)
 - ³ Ministry of Health, Via Giorgio Ribotta, 5, 00144 Rome, Italy; n.santini@sanita.it
 - ⁴ Regione Emilia-Romagna, Settore Prevenzione Collettiva and Sanità Pubblica, Viale Aldo Moro 21, 40127 Bologna, Italy; stefano.benedetti@regione.emilia-romagna.it (S.B.); luisa.lolipiccolomini@regione.emilia-romagna.it (L.L.P.); anna.padovani@regione.emilia-romagna.it (A.P.)
- * Correspondence: anamaria.morenomartin@izsler.it; Tel.: +39-0302290347

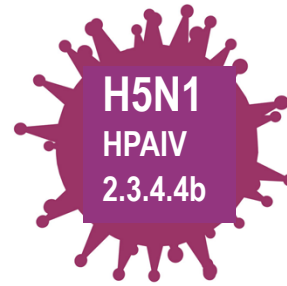
Viruses **2025**, *17*, 1535 <https://doi.org/10.3390/v17121535>



Scopo dello studio



- Investigare la persistenza o l'inattivazione di **due sottotipi di influenza A**:



- Durante la produzione di formaggi di tipo Grana.
- Il processo di produzione del formaggio è stato condotto in modo da replicare il metodo tradizionale “**Disciplinare Parmigiano-Reggiano DOP**”, adattato alle condizioni di laboratorio.

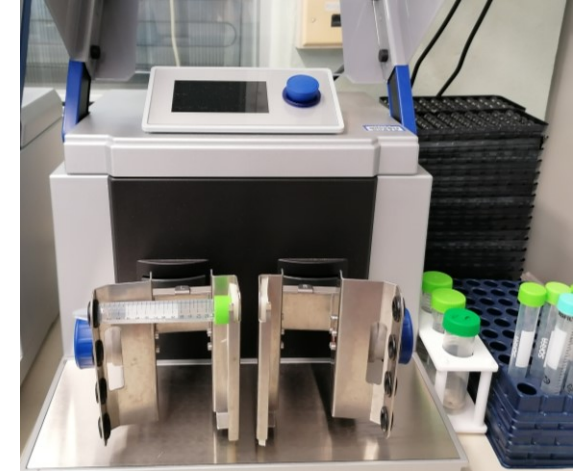




Materiale e metodi

Validazione della preparazione dei campioni (FDA, ISO15216)

- 2 porzioni di **1 g di formaggio Grana** (contaminato H1N1 C+ e negativo C-)
- Tubi falcon di 15ml con tre biglie magnetiche (10%p/v)
- Omogeneizzazione con TissueLyser II (Qiagen Italia, Milan, Italy) a 30 Hz per 5 minuti



Isolamento virale e titolazione in SPF-UEP

- Titolazione virale in uova embrionate di pollo SPF (**EID50/ml** con metodo Reed and Muench)
- **Crescita virale**: Inoculazione del materiale (10%p/v) non diluito in SPF-UEP per via allantoidea. Raccolta del liquido allantoideo dopo 4 gg incubazione. Verifica crescita AIV con ELISA virologica e HA. Due passaggi ciechi prima di confermare la negatività





1° PROVA: DISEGNO SPERIMENTALE

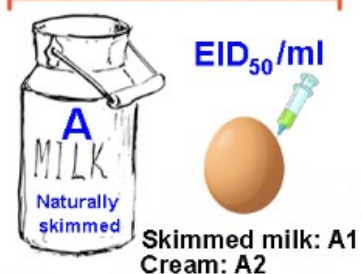


A/Duck/Italy/281904-2/06 H1N1 LPAIV

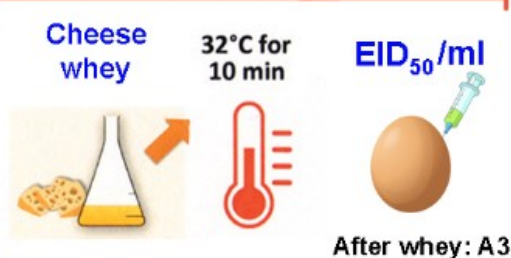
Step 1



Step 2



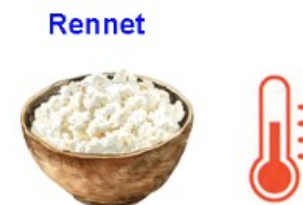
Step 3



Step 4



Step 5





RISULTATI



Trial	Virus						
		Lotto	Latte	Latte scremato	Panna	Doppo aggiunta siero	Formaggio dopo 30gg maturazione
			Titolo virale				Crescita virale
		Campioni	10 ⁴ EID ₅₀ /mL				3 x 1gr
1	A/duck/Italy/281904-2/06 (H1N1)	A	7.25	A1>5.00	A2 >5.00	A3 =6.00	A4; A5; A6 : NEG
		B	7.25	Nt	Nt	Nt	B4; B5; B6: NEG
	NO	C	NO	Nt	Nt	Nt	C4: NEG

A 3 x 1gr: **A4, A5, A6**

B 3 x 1gr: **B4, B5, B6**

C 1 x 1gr: **C4**

NEGATIVI

Dopo 2 passaggi ciechi in SPF-UEP



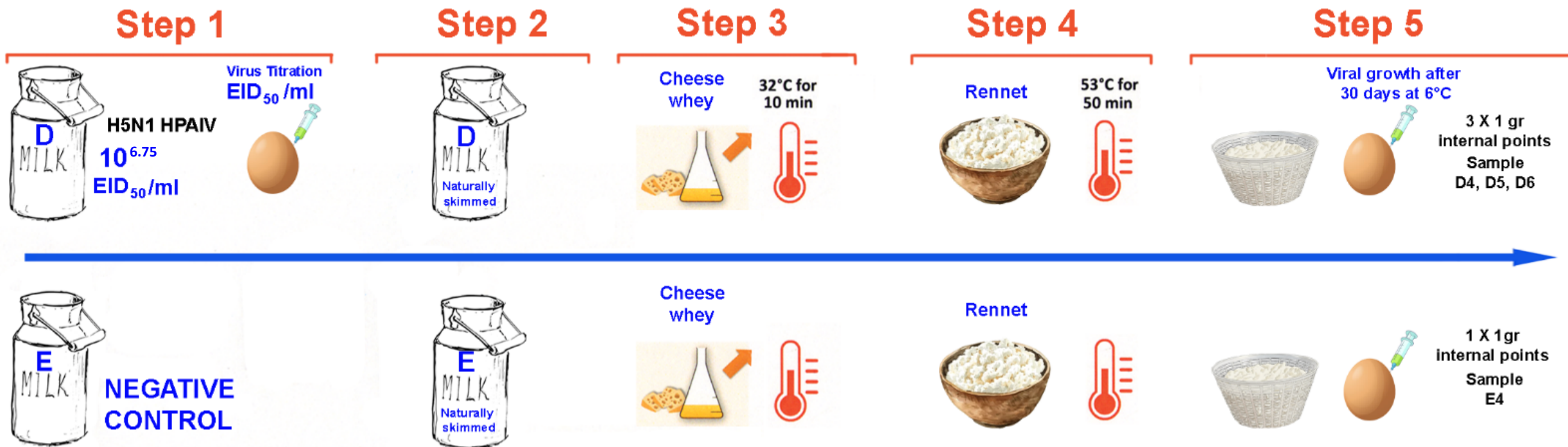
YES



2° PROVA: DISEGNO SPERIMENTALE



A/duck/Italy/326224-2/22 H5N1HPAIV (2.3.4.4b)



D 3 x 1gr: **D4, D5, D6**

E 1 x 1gr: **E4**

NEGATIVI

Dopo 2 passaggi ciechi in SPF-UEP



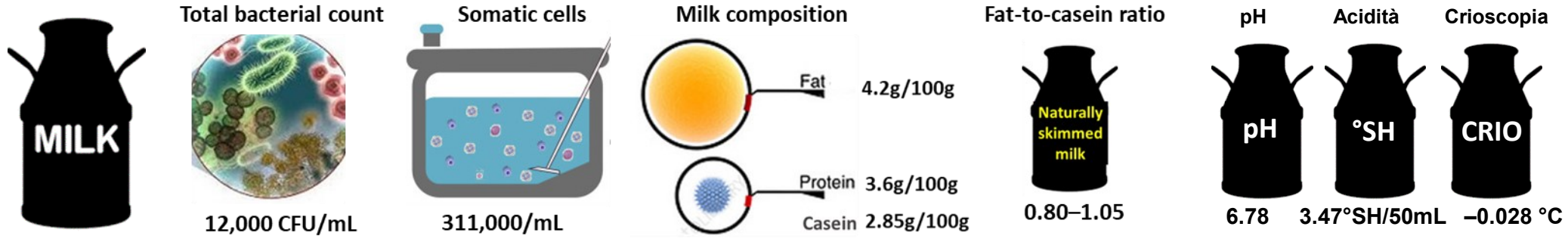
YES



Parametri chimico-fisici del latte e formaggi



Caratteristiche del latte in linea con gli standard della Pianura Padana



Caratteristiche del formaggio conformi agli standard del formaggio Parmigiano Reggiano

- **Umidità su base priva di grassi (MFFB)** (Decisione della Commissione 97/80/EC). Classificazione dei formaggi in base alla loro consistenza:
 - Morbido: $\geq 68\%$; Semimorbido: 62–67%; Semiduro: 55–61%; Duro: 47–54%; Extra duro: $< 47\%$
- **pH e acqua libera (AW)**
- **MFFB: 47–55%** dopo 4 settimane di stagionatura → Categoria formaggi a pasta dura
- **pH: 5,34** in linea con i valori di pH del formaggio Parmigiano Reggiano (5,28 – 5,36)
- **Aw : $< 0,79$** → (Aw < 1 riduce la sopravvivenza virale) Fortemente dipendente dal volume del formaggio
- Valore Aw leggermente inferiore rispetto al Parmigiano Reggiano dopo 9-12 mesi di stagionatura (Aw 0,83-0,85)





Conclusioni



La produzione tradizionale di formaggi Grana da latte crudo, secondo il disciplinare Parmigiano Reggiano, **inattiva completamente** sia **LPAIV (H1N1)** sia **HPAIV(H5N1 clade 2.3.4.4b)**.

Anche utilizzando **inoculi virali molto superiori** a quelli osservati nel latte di massa nelle epidemie naturali, dopo 30 giorni di stagionatura non è stato rilevato virus infettivo, indicando un ampio margine di sicurezza.

Il latte visibilmente **alterato è escluso per normativa** → ulteriore riduzione del rischio per il consumatore.

Le fasi di produzione, cottura della cagliata, acidificazione, spurgo del siero, salatura e prolungata maturazione, forniscono **barriere sequenziali** che eliminano in modo affidabile l'infettività degli AIV.

Il rigoroso rispetto del disciplinare PDO assicura **riproducibilità, rilevanza pratica e trasferibilità dei risultati** alla produzione casearia commerciale.

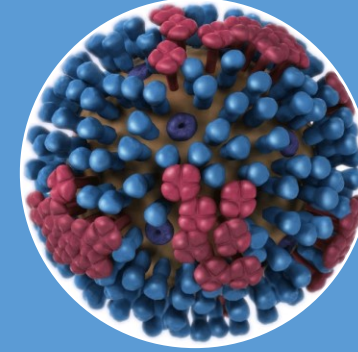
L'inattivazione osservata per due virus (H1N1 e H5N1) suggerisce un **comportamento simile degli influenza A** durante la maturazione del formaggio.

I parametri finali (pH ~5,3; MFFB conforme; Aw ridotta) riflettono un **ambiente sfavorevole alla persistenza** dei virus.

Viene evidenziato il **ruolo cruciale dei parametri regolamentati**, temperatura, sviluppo del pH e durata della stagionatura, come misure di controllo efficaci per la tutela della salute pubblica.



I processi produttivi del Grana eseguiti correttamente **rendono sicuri** i formaggi duri da latte crudo anche in caso di improbabile contaminazione da HPAIV a livello di allevamento.



Lo studio colma un'importante lacuna per la valutazione del rischio e supporta la conclusione che il rischio di trasmissione alimentare di HPAIV tramite questi formaggi è **trascurabile**.

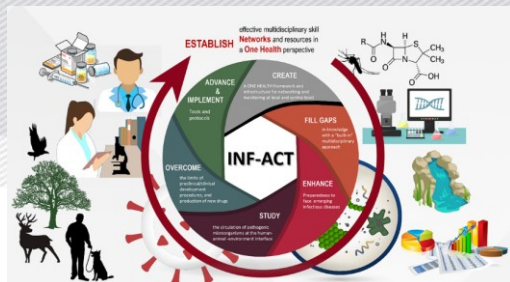
Take home message



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

LA NOSTRA
ESPERIENZA,
LA VOSTRA
SICUREZZA.

**Thank you for your
attention**



FUNDING: One Health Basic and Translational Actions Addressing Unmet Needs on Emerging Infectious Diseases (INF-ACT). NextGeneration EU-MUR PNRR Extended Partnership initiative on Emerging Infectious Diseases (Project no. PE00000007, INF-ACT)