Valutazioni sulle dinamiche di comportamento di Escherichia coli STEC nei formaggi d'alpeggio a base di latte crudo

written by Rivista di Agraria.org | 12 agosto 2017
di Miriam Dolce

"*Il latte è il prodotto ottenuto dalla mungitura regolare, ininterrotta e completa della mammella di animali in buono stato di salute e di nutrizione*". E' questa la definizione che dà l'articolo 15 del R.D. 994/9 del 9 maggio 1929. L'attività agro-zootecnica che principalmente rispetta questo dettato, certamente di vecchia data, ma molto attuale, è l'alpeggio.
E' stata da questa splendida realtà che è scaturito l'interesse di approfondire l'argomento, fino a farne oggetto di studio della mia tesi, incentrata su "*Le dinamiche di comportamento di E.Coli STEC nei formaggi d'Alpeggio a base di latte crudo".*
Dal 2010 la Direzione Generale Sanità della Regione Lombardia ha intrapreso un piano di campionamento volto a verificare: le condizioni igienico-sanitarie degli alpeggi riconosciuti e registrati presenti in Lombardia, il campionamento durante tutte le fasi di lavorazione e la successiva correlazione dei risultati con le caratteristiche dei prodotti finiti.
La selezione degli impianti presso cui condurre la sperimentazione è stata dettata dalla necessità di condurre le verifiche sulle tipologie di formaggio (con e senza cottura della cagliata, a breve e media stagionatura) che fossero rappresentative della produzione di tutto l'arco alpino regionale. La sperimentazione è stata svolta prendendo come base i risultati di non conformità ottenuti dai campioni di formaggio, nel biennio 2014-2015, mostrati nella seguente tabella comparativa, focalizzando l'attenzione per il riscontro di Enterobacteriaceae e di Escherichia coli STEC (Shiga toxin-producing Escherichia coli):

Le risultanze emerse hanno evidenziato la necessità di focalizzare l'attenzione dei Dipartimenti Veterinari verso i formaggi a base di latte crudo da consumarsi freschi o con una stagionatura inferiore ai 90 giorni, in quanto considerati maggiormente esposti al rischio microbiologico, al fine di evitare il pericolo di contaminazioni batteriche, considerato che la componente microbica è in grado di condizionare la salubrità dei prodotti e la loro conservabilità.

Il progetto di questo mio lavoro è nato dall'osservazione dei risultati, negli anni 2014-2015, riportati nelle "Relazioni Attività Piano Alpeggi", ottenuti dalle analisi svolte dall'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna in collaborazione con le A.S.L. locali.
L'obiettivo del mio lavoro di tesi è stato proprio quello di determinare la dinamica di comportamento dello *STEC* nei campioni risultati positivi alle prime analisi, valutando l'eventuale correlazione, per i suddetti prodotti caseari, tra l'indagine di biologia molecolare tramite PCR e l'effettiva presenza del patogeno confermata tramite isolamento microbiologico e capire quali siano gli step tecnologici (cottura o meno della cagliata, stagionatura breve o prolungata, ecc.,) a cui viene sottoposto il latte o il formaggio e come questi influenzano la sopravvivenza del patogeno nel prodotto finito.
I campioni sono stati conservati presso il reparto di Microbiologia dell'IZSLER e periodicamente analizzati per valutare la presenza e/o la sopravvivenza del batterio. Su 1148 campioni analizzati solo 8 formaggi sono risultati positivi a *STEC*.

Per ogni lotto di formaggio sono stati analizzati diversi campioni e sono stati definiti dei parametri tecnologici e igienico-sanitari in grado di descrivere il comportamento dei patogeni durante il processo di stagionatura.

Il laboratorio ha provveduto ad eseguire:

- *Ricerca* Escherichia *coli STEC* tramite PCR ed eventuale conferma *microbiologica*
- *Numerazione* Enterobacteriaceae
- Numerazione *coli*
- Numerazione *STEC*
- *pH*
- a_w

L'indagine svolta ha evidenziato principalmente due fasi in grado di influire favorevolmente sulle caratteristiche igienico-sanitarie e quindi sulla sicurezza del prodotto finito:

1: Trattamento termico della cagliata; si precisa che per cottura della cagliata è stato considerato:

- un trattamento termico tra 40-43°C
- un trattamento termico tra 45-50°C

2: Tempo di stagionatura.

ed è emerso che:

1- RISULTATI *STEC*: tra tutti i campioni di formaggio analizzati sono risultati positivi allo *STEC* soltanto 2 su 5 dei formaggi con cottura della cagliata ed 1 su 3 dei formaggi senza cottura. In entrambi i casi, i dati mostrano una drastica riduzione dello *STEC* con l'aumento del periodo di stagionatura (oltre i 200 gg.).

2- NUMERAZIONE *Enterobacteriaceae*: più nel dettaglio, attraverso l'analisi dei grafici di seguito riportati, si evince come nei formaggi con cottura della cagliata la quantità di Enterobatteri diminuisca notevolmente da un valore iniziale di circa 6,97 Log ad uno finale di 0,48 Log; in quelli senza cottura della cagliata invece se ne riscontra un leggero aumento, corrispondente a circa 2 log. Ciò a conferma del fatto che il trattamento termico sia fondamentale per un sostanziale abbattimento della flora microbica.

3- DETERMINAZIONE del *pH*: le valutazioni e le analisi relative al *pH* effettuate non hanno evidenziato particolari differenze tra i campioni con cottura della cagliata e campioni senza cottura della cagliata; in ogni caso il valore registrato rientrava nel range 5-6.

In particolare si può rilevare come tale parametro, nel corso della stagionatura, tenga comunque a portarsi verso valori favorevoli alla sopravvivenza dei microrganismi, sottolineando quindi l'importanza di considerare nella fase di stagionatura anche l'andamento dell'acqua libera.

4- DETERMINAZIONE a_w: in entrambe le tipologie di formaggio l'attività dell'acqua diminuisce considerevolmente per arrivare ad un valore minimo di 0,86. Si può quindi ragionevolmente dedurre che, in tutti i casi, il livello di a_w finale non è compatibile con lo sviluppo di vari patogeni, *STEC* incluso.

Quindi con la valutazione sulla dinamica di comportamento dello *STEC* nei campioni presi in considerazione, analizzando attentamente i grafici ottenuti, si è dimostrato che la cottura della cagliata, a 45-50°C, è un parametro fondamentale, ma non sufficiente, per garantire la sicurezza dei formaggi a latte crudo prodotti in Alpeggio; infatti:

- il processo produttivo dei formaggi a latte crudo senza trattamento termico della cagliata e a breve stagionatura non crea delle condizioni tali da abbattere le cariche microbiche dei parametri igienico-sanitati (*Enterobacteriaceae, E. coli*), ma anzi questi peggiorano durante la produzione dei formaggi;
- nei formaggi a latte crudo con trattamento termico della cagliata il processo di cottura, a 45°-50°C, pur determinando l'abbattimento di flore contaminanti, quali *Enterobacteriaceae* ed *coli* generico, non è in grado da solo di contrastare efficacemente la presenza di *STEC* eventualmente presenti nel latte di partenza.

Si è notato infatti che non vi sono differenze, per la presenza di *STEC*, tra formaggi con cottura e senza cottura della cagliata, perché in entrambi i casi, nelle prime fasi della stagionatura, hanno mostrato positività allo *STEC*.
Si può invece affermare che la stagionatura superiore ai 6 mesi diviene un parametro fondamentale, unitamente alla cottura della cagliata (45-50°C), in quanto qualsiasi tipo di formaggio di partenza, oltre i 200 giorni di stagionatura, non si è più riscontrato la presenza di *STEC*.
Quanto visto nei formaggi contaminati naturalmente è stato poi confrontato con le attività sperimentali svolte presso il Laboratorio di Microbiologia degli Alimenti dell'IZTLER, dove sono state eseguite 2 sperimentazioni partendo sia da formaggi senza cottura della cagliata, a breve stagionatura sia formaggi con cottura della cagliata e a media stagionatura, e nei quali è stato inoculato sperimentalmente lo *STEC* nel latte di partenza al fine di studiarne la dinamica di comportamento.
Per i prodotti non stagionati si riporta l'esempio dello Stracchino della Valsassina, mentre per i prodotti stagionati si riporta l'esempio del formaggio tipo Formai de Mut.

Paragonando i dati ottenuti dai formaggi contaminati naturalmente con i dati ottenuti dai formaggi contaminati sperimentalmente si è potuto osservare che si sono avute le stesse rilevazioni, per quanto riguarda alcuni parametri tecnologici, ovvero si vede che il *pH* rientra nel range 5-6 e che l'attività dell'a_w si abbassa notevolmente in entrambi i casi.
In conclusione di questo lungo lavoro di ricerca e valutazione si può affermare che la cottura della cagliata a 45-50°C, aggiunta ad una stagionatura minima di 200 gg, può essere un fattore importante per ridurre ad un rischio accettabile lo *STEC* nei formaggi a base di latte crudo. Ciò è dovuto al fatto che i prodotti con la cottura della cagliata a 45-50°C hanno un abbattimento di un certo numero di log in diversi microorganismi.

Purtroppo, nonostante lo STEC venga attualmente considerato dall'OMS uno dei patogeni emergenti più pericolosi in grado di determinare tossinfezioni alimentari gravi, non vi è, ad oggi, una normativa specifica che definisca parametri precisi a cui far riferimento nei prodotti a base di latte, diversamente da altri patogeni.
Oltre ai controlli, occorre ovviamente mantenere aggiornata l'anagrafica degli alpeggi, quello degli allevatori / produttori coinvolti nelle attività di monticazione e, non da ultimo, codificare dal punto di vista quantitativo e qualitativo (merceologico, nutrizionale e soprattutto igienico sanitario) le produzioni.
I risultati e le valutazioni di tale lavoro, nonché i risultati ottenuti ed attestanti la conformità/non conformità di un certo prodotto, saranno estremamente positivi e vantaggiosi se da essi si saprà trarre la massima utilità possibile. Infatti è grazie ad essi che si possono rivalutare e monitorare i punti critici di controllo di filiera, che si possono attuare strategie di prevenzione primaria atte a minimizzare il rischio d'infezione per i consumatori (riducendo le spese pubbliche relative a cure ed ospedalizzazioni), che si possono rilanciare e migliorare le produzioni storiche d'alpeggio, contraddistinte da sapori e profumi unici oltre che da una genuinità artigianale tipica, che può e deve accompagnarsi a requisiti di sicurezza e salubrità.

Sintesi della Tesi di Miriam Dolce, discussa il 12/12/2016, Relatore Prof. Massimo Malacarne, Co-relatore Dott. Paolo Daminelli – Corso di Laurea Magistrale in "Biotecnologie Mediche, Veterinarie e Farmaceutiche" Università di Parma.

Miriam Dolce, laureata in Biotecnologie Mediche, Veterinarie e Farmaceutiche presso l'Università di Parma, vanta una significativa esperienza nel settore controllo alimenti maturata nei Reparti di Microbiologia e di Chimica Applicata agli alimenti dell'Istituto Zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna. E-mail:

dolce.miriam92@gmail.com