

CORRELAZIONE TRA CARICA MICROBICA DELLA CUTE DI BOVINI PRESENTATI AL MACELLO E CARATTERISTICHE MICROBIOLOGICHE DELLE CARCASSE DA ESSI DERIVATE

RELATIONSHIP BETWEEN LEVEL OF CONTAMINATION ON HIDE OF ANIMALS PRESENTED FOR SLAUGHTER AND CONTAMINATION ON THE RESULTANT CARCASSES

Riu R.1, Liuzzo G.2, Merialdi G.3, Bardasi L.3, Galletti G.3, Coccollone A.1, Giacometti F.1, Serraino A.1, Rosmini R.1

(1) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna

(2) A.U.S.L. Modena, Distretto di Carpi

(3) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

SUMMARY

The hide and viscera of cattle entering a slaughter facility are potential sources of contamination of carcasses including significant pathogens such as *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. If evisceration is correctly performed, visceral contents do not therefore contribute significantly to the overall contamination of the carcass. However, it is much more difficult to restrict contamination from the hide. The aim of this work is to investigate the relationships between the levels of dirt and contamination on the hide of animals presented for slaughter and the levels of contamination on the resultant carcasses. Cattle were visually inspected in the lairage of 2 abattoirs and assigned to a category ranging from 1 (very clean) to 5 (very dirty) depending on the observed cleanliness of the hide. Samples of hides and carcasses were taken from 50 animals for enumerate total viable counts, *Enterobacteriaceae* and *Escherichia coli*. The results show that there is a direct correlation between animal dirtiness and total bacterial count of the carcasses.

Key words

Cleanliness of hide, carcasses, contamination, food safety.

INTRODUZIONE

I microrganismi sono introdotti nella filiera delle carni attraverso gli animali che li veicolano a livello di tubo digerente e cute, che rappresentano la principale fonte di contaminazione delle carcasse al momento della macellazione (1; 2). Durante le operazioni di macellazione possono essere trasferiti sulla superficie della carcassa anche 3 log UFC/cm² (3); tra questi i c.d. "patogeni enterici" (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp, *E. coli* enteropatogeni), responsabili di malattie trasmesse da alimenti. Questi

patogeni sono veicolati attraverso le carni (4) e, spesso, tali contaminazioni avvengono durante le operazioni di eviscerazione e scuoiamento (5; 1).

Diversi autori (6) riportano una correlazione positiva tra concentrazione nelle feci e presenza sulla cute di *Escherichia coli* O157:H7 e conseguente contaminazione delle carcasse durante il processo di macellazione. Lo scuoiamento dell'animale rappresenta il momento più a rischio di contaminazione, in quanto le attività che vengono compiute richiedono la contemporanea manipolazione della cute dell'animale e delle sue masse muscolari, con possi-

bile trasferimento di microrganismi attraverso le mani, i coltelli, etc. (7). Il grado di contaminazione della cute degli animali macellati e la localizzazione dello sporco, influenzano in maniera, secondo alcuni, prevedibile la qualità delle contaminazioni alla fine del processo di macellazione (8). In particolare alcune aree della carcassa quali i fianchi, la punta del petto e i garretti sono i siti maggiormente esposti a tali contaminazioni (7). Numerosi contributi scientifici hanno riconosciuto l'importanza del materiale intestinale quale fonte di contaminazione da microrganismi patogeni delle carcasse, mentre è scarsa l'attenzione riservata alla cute quale veicolo di contaminazione. Scopo del lavoro è la valutazione della correlazione esistente tra stato di pulizia della cute di bovini avviati al macello e qualità microbiologica delle rispettive carcasse.

MATERIALI E METODI

Nel periodo compreso tra settembre 2008 e febbraio 2009, sono stati classificati per il grado di pulizia della cute i bovini avviati alla macellazione presso due strutture di piccole e medie dimensioni situate nelle provincie di Modena e Bologna (di seguito indicate come macello R ed F). Durante la visita ispettiva ant-mortem, tutti i soggetti presentati alla macellazione sono stati classificati per il grado di pulizia della cute secondo lo schema proposto dalla Food Standard Agency (9) che prevede 5 gradi di pulizia: da 1 (pulito e asciutto) a 5 (molto sporco) (Tabella n.1). In entrambi i macelli sono stati selezionati n. 25 bovini in modo da ottenere 5 soggetti per ciascuna delle 5 categorie di pulizia considerate.

Su ogni soggetto selezionato sono stati effettuati dei campionamenti su cute e carcassa per i seguenti

siti: punta del petto, linea alba, coscia e inguine per la cute; punta del petto, fianco, inguine e garretto per la carcassa. I campioni dalla cute sono stati effettuati sull'animale appena abbattuto prima che avessero inizio le operazioni di scuoiamento; mentre i campioni sulle carcasse sono stati eseguiti al termine delle operazioni di macellazione prima del raffreddamento delle stesse. Prima di ciascun campionamento è stata verificata la preventiva sterilizzazione degli strumenti utilizzati durante le operazioni di macellazione in modo da limitare, per quanto possibile, eventuali contaminazioni non riconducibili allo stato di pulizia dell'animale. Per ogni sito individuato è stata campionata un'area 100 cm² attraverso l'utilizzo di un delimitatore di superficie e di spugnette sterili preinumidite (*"Sponge-Bags"*, PBI-International). Con l'ausilio di un guanto sterile le spugnette sono state strofinate nell'area individuata per 5 volte in senso orizzontale e 5 volte in senso verticale, prima da un lato e poi dall'altro, sono state poi riposte in sacchetti da stomaker sterili e, infine, sigillate. Al termine delle operazioni i campioni sono stati identificati e trasportati a temperatura di refrigerazione al laboratorio di Microbiologia della sezione Diagnostica di Bologna dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna per le analisi microbiologiche. Tutte le analisi sono state effettuate entro 24 ore dal momento del prelievo. I campioni derivanti dalla cute sono stati esaminati singolarmente mentre i campioni derivanti dai 4 punti di una stessa carcassa sono stati esaminati in pool. Su ciascun campione è stata effettuata la numerazione della Carica Batterica Totale (Plate Count Agar - OXOID a 30°C per 72 ore), delle Enterobatteriacee (Violet Red Bile Agar - OXOID addizionato di Glucosio - Carlo Erba; incubazione a 30°C per 24 ore) e di

Tab. 1 - Classificazione dei bovini in base al grado di pulizia della cute.

Categoria	Classificazione	Descrizione
1	Pulito e asciutto	Asciutto, pulito circa la presenza di feci e sudiciume
2	Leggermente insudiciato	Asciutto/umido, leggera contaminazione da sporcizia/feci
3	Insudiciato	Asciutto/umido. Significante contaminazione con feci/sporcizia e/o significanti quantità di aderenze di paglia/lettiera
4	Molto insudiciato	Asciutto/umido, gravemente contaminato con feci/sporcizia.
5	Insudiciato e bagnato	Umido e bagnato, gravemente contaminato con feci/sporcizia.

Escherichia coli (Tryptone Bile BCIG agar - OXOID; incubazione a 44°C per 24 ore).

Per l'analisi statistica dei dati è stata utilizzata l'ANOVA allo scopo di valutare le differenze tra le medie di CBT rilevate nelle diverse categorie di pulizia dei soggetti. Per verificare la presenza di una relazione crescente tra la classificazione dei soggetti in base al grado di pulizia della cute e CBT rilevata, è stato utilizzato il test non parametrico di Jonckheere-Terpstra (test delle alternative ordinate) (10). Tale test consente di verificare se esiste una relazione monotona crescente tra una classificazione data a priori (5 gradi di pulizia della cute) e i dati raccolti (CBT log UFC/cm²). In fase di analisi dei dati i conteggi pari <3 UFC/cm² e <10 UFC/cm² sono stati considerati rispettivamente uguali a 2 e 9. Le elaborazioni dei dati sono state eseguite con il software R 2.8.1 e con il modulo Calc di OpenOffice.org 3.0.1.

RISULTATI

I valori minimo, medio e massimo dei logaritmi delle cariche microbiche (UFC/cm²) rilevate sui campioni di cute e carcassa per CBT, *Enterobacteriaceae* ed *Escherichia coli*, distinti per macello e categoria di pulizia sono sviluppati nelle tabelle n. 2 e 3. In entrambi i macelli considerati, i valori di CBT rilevati sulle carcasse e sulla cute hanno dimostrato differenze significative, in relazione al grado di pulizia (ANOVA, p<0.01), con valori medi riguardo alla CBT della cute pari a 3.9 log UFC/cm² e 4.0 log UFC/cm² rispettivamente per il macello R e F per i soggetti classificati in categoria 1 e 7.3 log UFC/cm² e 6.2 log UFC/cm² per i soggetti classificati in categoria 5. Per quanto riguarda i campionamenti effettuati sulle carcasse, i valori medi di CBT sono stati pari a 1.5 log UFC/cm² e 2.4 log UFC/cm² per i soggetti classificati in categoria 1 e 4.3 log UFC/cm² e 4.4 log

Tab. 2 – Minimo, media e massimo delle cariche rilevate, in Log UFC/cm², sui campioni di cute, per macello e categoria di pulizia.

Mac	R									F								
	CBT			Enterobact.			E.coli			CBT			Enterobact.			E.coli		
	min	med ^a	max	min	med ^a	max	min	med ^a	max	min	med ^a	max	min	med ^a	max	min	med ^a	max
1	2.7	3.9±1.2	7.1	<1.0	1.6±1.3	4.8	<1.0	1.6±1.3	4.8	2.8	4.0±0.6	5.3	<1.0	1.8±0.8	3.2	<1.0	1.6±0.7	3.0
2	3.6	5.4±1.0	7.3	<1.0	2.1±1.1	4.1	<1.0	1.6±0.8	4.1	3.7	5.2±0.6	6.3	<1.0	2.3±0.8	3.4	<1.0	1.9±0.7	3.0
3	4.1	6.3±1.2	8.2	<1.0	3.4±2.0	6.7	<1.0	2.6±1.3	4.8	4.5	6.4±0.9	7.7	1.0	2.8±0.8	4.0	<1.0	2.3±0.8	3.7
4	4.9	6.8±0.8	8.0	<1.0	3.7±1.2	6.0	<1.0	3.2±1.3	6.0	3.7	6.0±1.1	8.2	<1.0	2.4±0.8	3.6	<1.0	2.2±0.9	3.9
5	6.0	7.3±0.7	8.2	2.3	4.0±0.8	5.8	<1.0	3.5±1.0	5.0	4.2	6.2±1.0	7.7	1.9	3.5±1.1	5.1	1.3	3.2±1.4	5.0

^a media di 20 campioni ± deviazione standard

Tab. 3 – Minimo, media e massimo delle cariche rilevate, in Log UFC/cm², sui campioni di carcassa, per macello e categoria di pulizia.

Mac	R									F								
	CBT			Enterobact.			E.coli			CBT			Enterobact.			E.coli		
	min	med ^a	max	min	med ^a	max	min	med ^a	max	min	med ^a	max	min	med ^a	max	min	med ^a	max
1	0.7	1.5±0.6	2.2	<0.5	0.3±0.0	<0.5	<0.5	0.3±0.0	<0.5	1.6	2.4±0.8	3.6	<0.5	0.7±0.8	1.9	<0.5	0.7±0.7	1.8
2	1.6	2.1±0.7	2.9	<0.5	0.3±0.0	<0.5	<0.5	0.3±0.0	<0.5	2.1	2.6±0.5	3.4	<0.5	1.3±0.7	2.1	<0.5	0.6±0.3	1.0
3	1.6	3.0±1.5	5.3	<0.5	1.8±2.2	5.3	<0.5	1.1±1.1	2.7	2.7	3.0±0.3	3.4	<0.5	0.7±0.5	1.2	<0.5	0.5±0.2	0.7
4	3.3	3.6±0.5	4.4	<0.5	1.0±1.0	2.8	<0.5	0.9±1.1	2.9	2.9	3.6±0.4	4.0	0.9	1.5±0.8	2.9	<0.5	0.7±0.4	1.1
5	3.6	4.3±0.9	5.6	<0.5	1.4±0.9	2.6	<0.5	1.1±0.8	2.0	3.9	4.4±0.3	4.6	1.6	1.7±0.0	1.7	<0.5	1.3±0.7	1.8

^a media di 5 campioni ± deviazione standard

UFC/cm² per i soggetti classificati in categoria 5 rispettivamente per il macello R e F.

I valori medi di CBT rilevati sulle carcasse nei due macelli sono risultati significativamente maggiori al diminuire del grado di pulizia dei soggetti (Jonckheere, p<0.01). Per i prelievi effettuati sui campioni di cute, presso il macello R è stato altrettanto visibile un netto andamento crescente dei valori (Jonckheere, p<0.01) di carica microbica rilevata per le diverse categorie di pulizia: 3.9 log UFC/cm² per la categoria 1, 5.4 log UFC/cm² per la categoria 2, 6.3 log UFC/cm² per la categoria 3, 6.8 log UFC/cm² per la categoria 4 e 7.3 log UFC/cm² per la categoria 5. Presso il macello F il trend crescente è evidente solo tra le prime tre categorie di pulizia individuate (Jonckheere, p<0.01).

Per quanto riguarda le cariche batteriche riscontrate nei singoli siti di cute analizzati (punta del petto, linea alba, coscia e inguine), l'andamento della CBT rispetto alle categorie di pulizia proposte è schematizzato nei grafici 1 e 2.

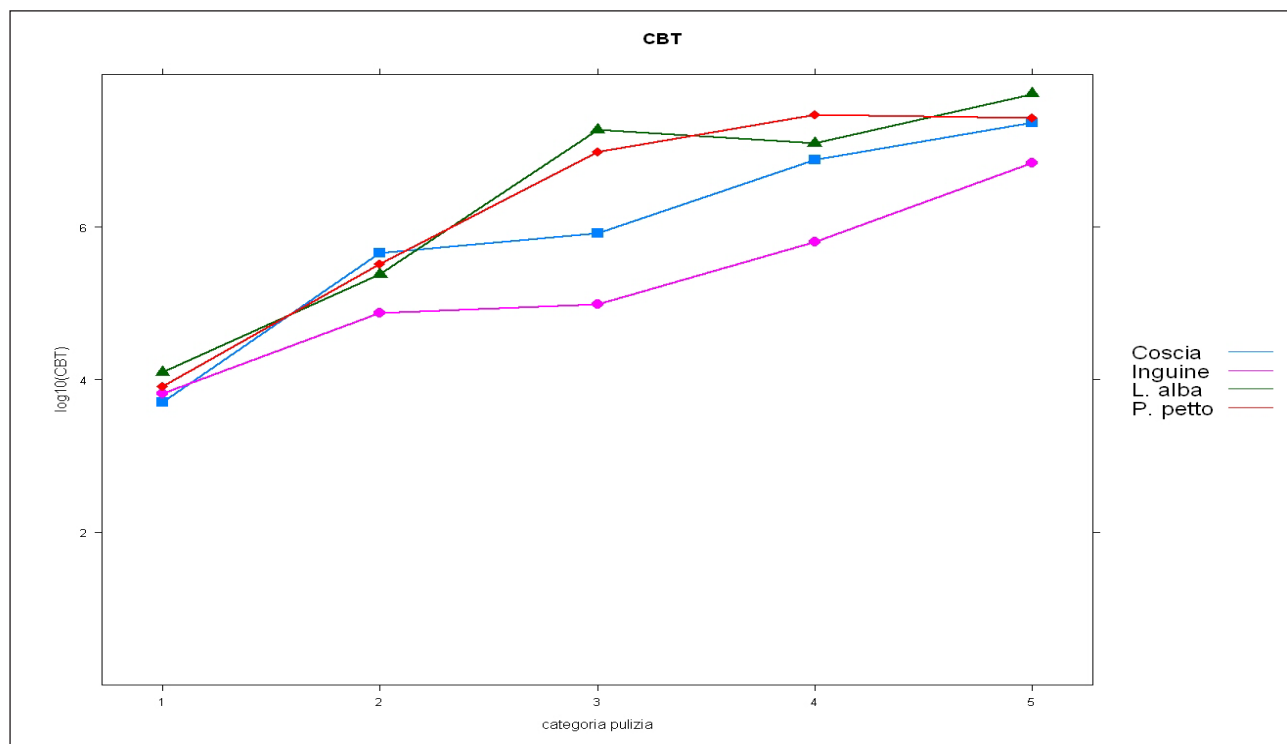
Come evidenziato da altri autori, la cute delle zone del corpo su cui poggia l'animale a riposo (petto e linea alba) appaiono i siti maggiormente contaminati per quasi tutte le categorie di pulizia prese in considerazione. Mentre la cute dell'inguine e della coscia parrebbe in generale la meno contaminata. In

ogni caso non è stato possibile accertare la significatività di questi valori a causa della notevole dispersione dei dati. Per entrambi i macelli non sono stati effettuati test di significatività statistica delle differenze osservate in merito a Enterobatteriacee ed *Escherichia Coli*, poiché per queste due variabili non sussistevano le condizioni di validità per i test proposti (non-normalità ed eteroschedasticità per ANOVA, molti valori ripetuti per il test di Jonckheere-Terpstra).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I dati disponibili dimostrano chiaramente come all'aumentare del grado di insudiciamento della cute dei soggetti macellati corrisponda un aumento della carica batterica rilevata sulle carcasse alla fine del processo. Il limite di accettabilità previsto dal Regolamento (CE) n. 2073 del 2005 riguardo ai parametri di igiene di processo per le carcasse, con prelievi effettuati con metodo distruttivo, è fissato in 3.5 log UFC/cm². Nel nostro caso i quantitativi medi di CBT riscontrati sulle carcasse provenienti da soggetti preventivamente classificati nelle categorie comprese tra la 3 e la 5, dunque considerati sporchi, se confrontati con i limiti di CBT individuati per le carcasse dal Regolamento comunitario risultano ele-

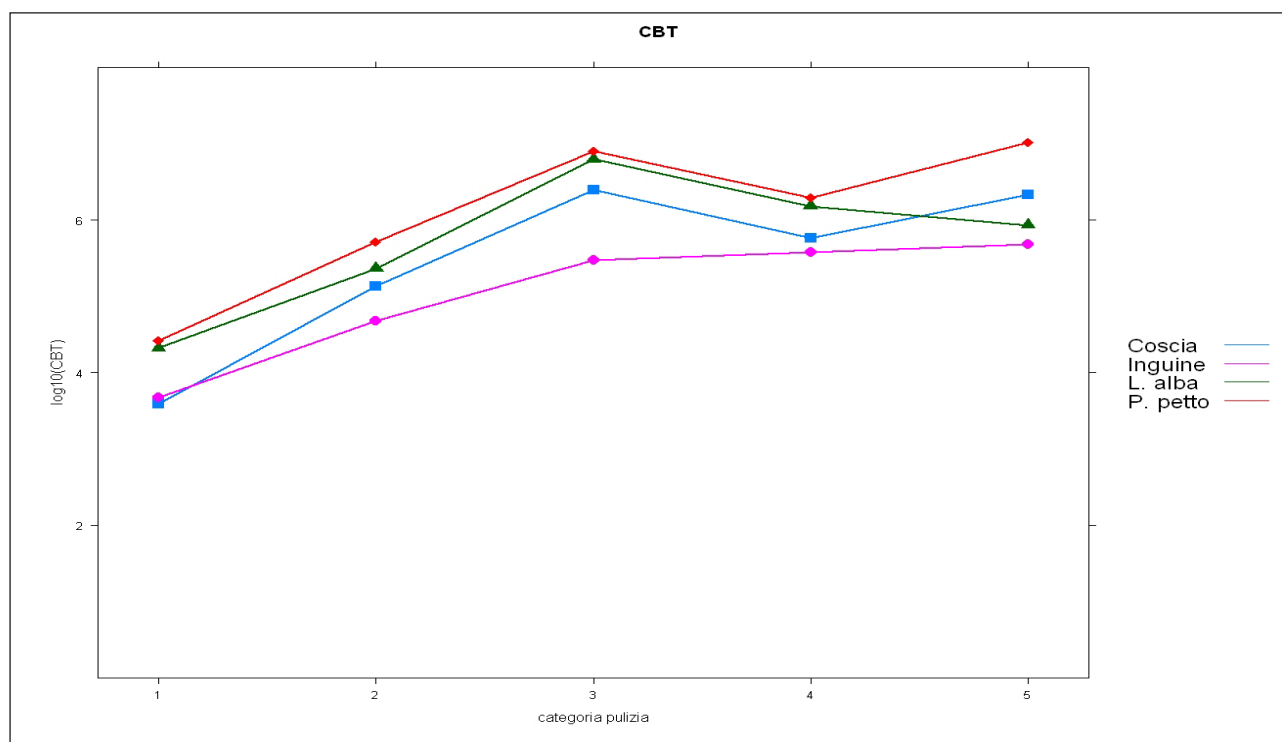
Grafico 1. Log CBT siti di prelievo cute e categoria di pulizia degli animali, macello R.



vati per entrambi i macelli R ed F; soprattutto se si tiene conto dell'utilizzo di una metodica di campionamento, le "sponges", che secondo alcuni autori tenderebbe a sottostimare il reale quantitativo di carica microbica presente rispetto al metodo per escissione cui fanno riferimento i limiti riportati dalla normativa. I risultati ottenuti sono in accordo con quanto evidenziato da altri autori e mettono in luce come a soggetti con cute visibilmente molto sporca corrispondano cariche batteriche sulle carcasse anche superiori a 10^5 UFC/cm² (1). Per quanto riguarda i dati riferiti alla cute, le CBT rilevate sono chiaramente più elevate nei soggetti classificati come sporchi (cat. da 3 a 5) rispetto ai soggetti classificati come puliti (cat. 1 e 2). Un dato che però appare interessante e che andrebbe maggiormente investigato è che molti autori identificano la punta del petto e la linea alba, ossia le zone della cute su cui poggia l'animale in decubito e che, quindi, possono venire maggiormente a contatto con il suolo e con le feci, come le aree maggiormente contaminate da microrganismi patogeni per tutte le categorie di pulizia. Il grado di imbrattamento di queste zone, spesso non facilmente visibile quando l'animale è in stazione, potrebbe rappresentare un importante veicolo di contaminazioni essendo questi punti quelli su cui avvengono le prime linee di taglio durante le operazioni di scuoiamento dell'animale. Visti i risultati

appare chiaro come il grado di "contaminazione visibile" della cute dei bovini presentati al macello abbia un'influenza sul livello di contaminazione delle carcasse, questo nonostante vengano applicate correttamente dagli operatori le GMP e GHP. I dati raccolti durante la nostra indagine evidenziano inoltre che le cariche batteriche delle carcasse dei soggetti classificati come sporchi sono risultate "non soddisfacenti" in entrambi i macelli, sebbene le due realtà produttive utilizzassero due differenti modalità di scuoiamento degli animali (scuoiamento manuale per il macello R, scuoiamento meccanico per il macello F), dimostrando dunque che, durante la macellazione di soggetti con cute molto sporca, le normali attività di pulizia e disinfezione degli strumenti e le corrette attività degli operatori non sempre sono sufficienti a contenere il pericolo di eventuali contaminazioni. Alla luce di ciò risulta a nostro parere giustificabile prevenire, per quanto possibile, l'ingresso nei locali di macellazione di soggetti classificati come sporchi. La messa a punto di uno schema di valutazione del grado di pulizia degli animali al macello, permetterebbe di applicare facilmente, con rapidità e precisione, un metodo che il responsabile dello stabilimento potrà utilizzare al fine di selezionare i soggetti idonei alla macellazione (11). Sensibilizzare tutti gli operatori della filiera sull'importanza che riveste ciascuna fase del pro-

Grafico 2. Log CBT siti di prelievo cute e categoria di pulizia degli animali, macello F.



cesso produttivo nel determinare le qualità microbiologiche del prodotto impedendo l'arrivo al macello di animali le cui condizioni igieniche possano rappresentare un rischio per le fasi successive di lavorazione (qualifica dei fornitori di bestiame sulla base del grado di pulizia dei soggetti), applicare "strumenti correttivi" (es. lavaggio della cute con soluzioni disinfettanti, macellazione logistica dei soggetti in base al grado di pulizia) sono elementi che dovrebbero essere inseriti nel sistema di autocontrollo del macello per limitare il più possibile la probabilità di contaminazione delle carni da microrganismi patogeni.

BIBLIOGRAFIA

- 1) McEvoy, J. M., Doherty A. M., Finnerty M., Sheridan J. J., McGuire L., Blair I. S., MacDowell D. A., Harrington D. (2000). The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at a commercial abattoir. *Letters in Applied Microbiology*, 30, pp. 390-39
- 2) Cartier P. (1997). Le point sur de la qualité microbiologique de la viande bovine. Collection Interbev « *le point sur* ».
- 3) Arthur T.M., Wheeler T.L. Shackeloford S.D., Bosilevac J.M., Nou X., Koohmaraie M. (2005). Effects of low-dose, low-penetration electron beam irradiation of chilled beef carcass surface cuts on *Escherichia coli* O157:H7 and meat quality. *Journal of Food Protection*, 68, pp. 666 - 672.
- 4) Huffman R.D. (2002). Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Science*, 62, pp. 285-294.
- 5) Nastajjevic I., Mitrovic R., Buncic S. (2008). Occurrence of *Escherichia coli* O157 on hides of slaughtered cattle. *Letters in Applied Microbiology*, 46, pp. 126-131.
- 6) Elder R.O., Keen J.E., Siragusa, G.R., Barkocy-Gallagher G.A., Koohmaraie M., Laegreid W.W. (2000). Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proceedings of the National Academies of Sciences*, 97, pp. 2999-3003.
- 7) Edwards J.R., Fung D.Y.C. (2006). Prevention and decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 on raw beef carcasses in commercial beef abattoirs. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 14, pp. 1-95.
- 8) Sofos J.N., Belk K.E., Smith G.C. (1999). Processed to reduce contamination with pathogenic microorganisms in meat. Proc. 45th Intl. Congress of Meat Science and Technology, August 1-6, Yokohama, Japan, pp. 596-605.
- 9) F.S.A. (Food Standard Agency) (2004). Read Meat Safety & Clean Livestock, Published by the Food Standard Agency in June 2002 (Reprinted March 2004). Crown Copyright 2002, Printed in England 2K FSA/0595/0602.
- 10) Soliani Lamberto (2006). Manuale di statistica per la ricerca e la professione. Parma, Ed. Uni.Nova. www.dispensestatistica.com
- 11) Liuzzo G., Rossi R., Coccollone A., Riu R. (2009). Applicazione pratica di uno strumento di valutazione del grado di pulizia di bovini presentati al macello. *Rivista dell'Associazione Italiana dei Veterinari Igienisti (A.I.V.I.)*, 3, pp. 25-30.