

# UN CASO DI NUOVA ALTERAZIONE CROMATICA DELLA RICOTTA

## A NEW DISCOLORATION OF RICOTTA CHEESE

Alberghini L.<sup>1</sup>, Tallone G.<sup>2</sup>, Giaccone V.<sup>1</sup>

<sup>(1)</sup> Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria – Università di Padova, Legnaro (PD)

<sup>(2)</sup> Istituto Lattiero-Caseario e delle Tecnologie Alimentari di Moretta (CN)

### SUMMARY

A new alteration of ricotta cheese is here described. The discoloration which has been noted was red. The responsible bacteria has been identified as *Serratia marcescens*. This is probably the first report of this rare type of spoilage identified in Italy.

### Key words

Ricotta, *Serratia marcescens*, discoloration.

Le alterazioni cromatiche dei prodotti lattiero-caseari sono una tipologia di difetto che origina da molteplici cause. Difetti di crosta sono, di norma, correlati alla crescita di microrganismi cromogeni, come per esempio *Pseudomonas putida*, che altera le mozzarelle producendo una colorazione rosata (1). In una ricerca affine alla precedente è stato descritto un ceppo di *Shewanella baltica* che induceva colorazioni rosa nei prodotti caseari a pasta filata (2). Possono tingere di rosso il latte anche gli estratti di certe piante come la *Rubinia tinctoria* e le *Euforbiacee* (3). I casi di alterazioni cromatiche della pasta dei formaggi sono, invece, più complessi e spesso correlati con il metabolismo proteico e i fenomeni ossidativi dovuti al contatto con l'aria (4). Svolgendo un'indagine ispettiva allo scopo di individuare le cause di una particolare colorazione rossastra in alcune ricotte provenienti dallo stesso produttore, si sono isolati batteri inconsueti e per que-

sto motivo abbiamo ritenuto opportuno darne comunicazione. L'alterazione rossa delle ricotte è riprodotta nella figura 1. Esami microbiologici si sono condotti sulle quattro ricotte alterate, sui teli di sgrondo, sul sale e successivamente anche sul latte proveniente da una vacca con mastite subclinica sospettata di essere la fonte di contagio. Al fine di isolare i ceppi pigmentati abbiamo proceduto a spatolare la sospensione di soluzione peptonata su terreno selettivo Mac Conkey Agar (Oxoid) e incubate a 25°C per 5 giorni. Si sono prelevate e seminate le colonie pigmentate in agar nutritivo, incubate a 25°C per altre 48 ore ed esaminate con la colorazione di Gram. In base ai risultati preliminari raccolti sul ceppo, la successiva identificazione è stata condotta con prove biochimiche in micrometodo API 20 E (BioMérieux) (5). Dai campioni analizzati sono stati isolati ceppi identificati come *Serratia marcescens*. Il genere *Serratia* appartiene alla famiglia



Figura 1

delle *Enterobacteriaceae* (6). Comprende 13 specie e 4 sottospecie e gli studi filogenetici propongono di separare il genere in due gruppi (7). Il primo gruppo è costituito da *S. odorifera*, *S. marcescens* e *S. rubidaea* e il secondo da *S. entomophila*, *S. ficaria*, *S. fonticola*, *S. plymuthica*, *S. proteamaculans* e *S. grimesii*. Tutte le specie all'esame microscopico appaiono di forma bastoncellare, Gram negative con estremità arrotondate e macroscopicamente le colonie sono di aspetto opaco, bianche, arancioni o rosse a seconda del genotipo e del substrato di crescita (8). Alcuni ceppi di *S. marcescens*, *S. rubidaea* e *S. plymuthica* elaborano un pigmento legato alla parete cellulare, insolubile in acqua, denominato prodigiosina (7). Alcuni ceppi di *S. marcescens* biogrupo A4 producono un altro pigmento solubile in acqua denominato pirimina (8), di colore rosa e contenente ferro (7). Le nicchie ecologiche preferenziali del genere *Serratia* sono le acque e i vegetali, ma da questi habitat i batteri possono contaminare alimenti o causare infezioni in animali o nell'uomo (9). *S. marcescens* è un patogeno opportunistico e provoca infezioni gravi sia perché coinvolge di norma pazienti debilitati sia per la scarsa sensibilità del germe agli antibatterici (10), costituendo un patogeno emergente nella salute

pubblica (11). In medicina umana sono state descritte infezioni opportunistiche all'occhio (12), alla cute (13) e alle vie respiratorie (14). In un periodo di sei anni (1988-1995) in due ospedali di Dublino si è sviluppata un'epidemia, con uno strano andamento, causata da un ceppo antibiotico resistente di *S. marcescens*. Un singolo ceppo riconducibile al sierotipo O14:K14 è stato isolato nel 69% dei pazienti, ma non è stato possibile riconoscere la fonte di contaminazione e si è giunti alla conclusione che la via di trasmissione fosse da paziente a paziente tramite le mani degli operatori sanitari (15). L'infezione da *S. marcescens* e *S. liquefaciens* nei bovini può provocare mastiti contaminando il latte (16). Un'indagine ad ampio raggio condotta su pesci d'acqua dolce, carni preparate, latte o crema di latte conservati a 7°C mediante l'utilizzo della PCR ha voluto identificare i geni codificanti le tossine (17). Nei campioni di carne, del precedente studio, due colonie di *S. liquefaciens* sono risultate positive all'amplificazione del gene *vt2* codificante la produzione di verocitotossina. Da colonie di *S. rubidaea* e *S. liquefaciens* è stata isolata una tossina termolabile, pur mancando segnalazioni di un loro coinvolgimento in episodi di tossinfezione alimentare (18). La possibi-

lità che vi sia connessione tra sviluppo di malattia e consumo di cibi inquinati da *Serratia* spp. non è, quindi, ancora ben chiara. In letteratura sono citati solo i casi di lattanti infettati da latte contaminato e di un paziente che, mangiando fichi, ha sviluppato una infezione da *S. ficaria* (16). Oltre alla potenziale patogenicità del genere, comunque, qualche ceppo sicuramente può alterare gli alimenti. Questa capacità è dovuta alla possibilità di idrolizzare peptidi e glucidi, di scindere i lipidi, di sintetizzare idrogeno solforato dalla cisteina, di potersi moltiplicare a temperature comprese tra 1° e 5°C (9). I ceppi sono anche, molto resistenti in quanto in grado di sopravvivere in soluzioni disinfettanti utilizzate normalmente nell'industria alimentare (19). Questi germi hanno una sviluppata capacità di propagarsi su diverse superfici quali materiali di imballaggio per alimenti e impianti di mungitura (9). Questa specie, fu segnalata la prima volta nel 1823 da Bartolomeo Bizio (10) quale agente del "miracolo della polenta sanguinante" manifestatosi qualche anno prima nel villaggio di Legnaro (Padova). Il fenomeno risultò essere frutto della contaminazione nella polenta di *Serratia*, le cui colonie simulavano l'aspetto di gocce di sangue. *Serratia* spp. è stata coinvolta nell'alterazione di uova, burro, latte, pane e sia *S. liquefaciens* sia *S. rubidaea* sono in grado di moltiplicare sulla superficie di pesci affumicati ed essiccati (8). *S. odorifera* invece, cresce rapidamente sulla superficie degli insaccati crudi, produce un odore pungente ed esercita potere collagenolitico sul budello provocandone la rottura (6). Un precedente studio segnalava l'annerimento superficiale di trippe precotte conservate sottovuoto. Tale alterazione era causata dalla formazione di solfuro di ferro prodotto in seguito alla liberazione di acido solfidrico da ceppi di *S. liquefaciens* e alla sua combinazione con il ferro presente nell'alimento (9). *S. marcescens*, *S. fonticola* e *S. plymuthica* sono state isolate da tonno (*Thunnus thynnus*) e sono state in grado di decarbossilare l'istidina formando istamina; in particolare, il ceppo di *S. marcescens* in condizioni sperimentali ha prodotto 200 ppm di istamina (20). In Zimbabwe sono stati isolati ceppi di *S. marcescens* sia nel latte crudo sia nel latte pastorizzato o acidificato naturalmente (21). La presenza di *Enterobacteriaceae* tra cui, *Serratia* spp., in alimenti refrigerati rappresenta un rischio per la salute umana, soprattutto se questi alimenti sono conservati per lungo tempo o consumati senza essere preventivamente riscaldati (17). A conferma di quanto su esposto, uno studio, teso a individuare e identificare la contaminazione da *Enterobacteriaceae* su carne refrigerata, ha evidenziato una prevalenza pari al 36% di *Serratia* spp. sul to-

tale dei campioni analizzati. Altro dato rilevante, inoltre, è stato che la temperatura minima di crescita per *S. liquefaciens* era di 1,7°C e di *S. fonticola* di 2,0°C (22). Il Dott. Schukken (Cornell University) ha segnalato un incremento di mastiti croniche da microrganismi Gram negativi, tra cui *S. marcescens* (23). Le fonti ambientali responsabili nelle epizootie di mastite sono rappresentate da lettiera e disinfettanti per capezzoli, ma non sempre si riesce a identificare un serbatoio ambientale di *Serratia* spp. Alla luce di questi dati possiamo concludere che l'evoluzione tecnologica impone la necessità di identificare con maggior precisione e rapidità gli ecosistemi microbici negli alimenti, al fine di individuare e gestire forme adeguate di ispezione. Particolarmente approfondita, a nostro parere, dovrebbe essere l'individuazione e la tipizzazione dei ceppi presenti nei latticini, considerato il numero di batteri di incerta posizione tassonomica.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Cantoni C., Milesi S., Iacumin L. (2006). *Kocuria rhizophila* *Pseudoclavibacter helvolus* e *Pseudomonas putida* quali germi alteranti i prodotti lattiero-caseari. Industrie alimentari, Dicembre, 1261-1263
- 2) Cantoni C., Iacumin L., Milesi S. (2006). Descrizione di ceppi batterici gram negativi alteranti prodotti lattiero caseari. Industrie alimentari, Giugno, 657-660
- 3) Fascetti G., (1929) Latte. Ed. Ulrico Hoepli, Milano, 173
- 4) Mucchetti G., Neviani E. (2006). Microbiologia e tecnologia lattiero-casearia. Qualità e sicurezza. Ed. Tecniche Nuove, Milano, 400
- 5) Becker B., Weiss C., Holzappel W.H. (2009). An evaluation of the use of three phenotypic test-system for biochemical identification of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonadaceae*. Food Control, 20 (9), 815-821
- 6) Cantoni C., Valnegri L., Cozzi M., Comi G. (2005). Nuova alterazione degli insaccati crudi stagionati. Industrie alimentari, Febbraio, 142-144
- 7) Cantoni C., Milesi S., Cozzi M., Ripamonti B. (2007). Ceppi batterici contaminanti i prodotti lattiero-caseari e loro caratteristiche funzionali. Industrie alimentari, Giugno, 637-643
- 8) Cantoni C., Chiesa L.M., Valnegri L. (2005). Identificazione e proprietà alteranti di *S. odorifera*. Industrie alimentari, Marzo, 267-271
- 9) Cantoni C., Bersani C., Marchesi S.L. (1997). Annerimento della trippa dovuto a *Serratia* spp. Industrie alimentari, Gennaio, 10-16
- 10) La Placa M. (2008). Principi di microbiologia medica. Ed. Esculapio, Bologna, 290
- 11) Kurz C.L., Chauvet S., Andrès E., Aurouze M., Vallet I., Michel G.P.F., Uh M., Celli J., Filloux A., de Bentzmann S., Steinmetz I., Hoffmann J.A., Finlay B.B., Gorvel J., Fer-



- randon D., Ewbank J. (2003). Virulence factors of the human opportunistic pathogen *S. marcescens* identified by in vivo screening. *The EMBO Journal*, 22 (7), 1451-1460
- 12) Equi R.A., Green W.R. (2001). Endogenous *Serratia marcescens* endophthalmitis with dark hypopyon: a case report and review. *Survey of ophthalmology*, 46 (3), 259-262
- 13) Rallis E., Karanikola E., Papadakis P. (2008). Severe facial infection caused by *Serratia marcescens* in an immunocompetent soldier. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58 (5), S109-S110
- 14) Albers I.J., Mouton J.W., Tibboel D. (2001). Colonization and infection by *Serratia* species in a paediatric surgical intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, 48 (1), 7-12
- 15) Hejazi A., Aucken H.M., Falkiner F.R. (2000). Epidemiology and susceptibility of *Serratia marcescens* in a large general hospital over an 8-year period. *Journal of Hospital Infection*, 45 (1), 42-46
- 16) Rafii F. (2000). *Serratia*, in *Enciclopedia of food microbiology*. Ed. R.K. Robinson, C.A. Batt & P.D. Patel. London: Academic Press, 1989-1993
- 17) Lindberg A.M., Ljungh Å., Ahrné S., Löfdahl S., Molin G. (1998). *Enterobacteriaceae* found in high numbers in fish, minced meat and pasteurised milk or cream and the presence of toxin encoding genes. *International Journal of Food Microbiology*, 39 (1-2), 11-17
- 18) Tiecco G. (1997). *Igiene e tecnologia alimentare*. Edagricole, Bologna, 718
- 19) Langsrud S., Moretto T., Sundheim G. (2003). Characterization of *Serratia marcescens* surviving in disinfecting footbaths. *Journal of Applied Microbiology*. 95, 186-195
- 20) Lopez-Sabater E.I., Rodriguez-Jerez J.J., Hernandez H.M., Mora-Ventura M. (1996). Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. *International Journal of Food Microbiology*, 28 (3), 411-418
- 21) Gran H.M., Wetlesen A., Mutukumira A.N., Rukure G., Narvhus J.A. (2003). Occurrence of pathogenic bacteria in raw milk, cultured pasteurised milk and naturally soured milk produced at small-scale dairies in Zimbabwe. *Food Control*, 14 (8), 539-544
- 22) Ridell J., Korkeala H. (1997). Minimum growth temperatures of *Hafnia alvei* and other *Enterobacteriaceae* isolated from refrigerated meat determined with a temperature gradient incubator. *International Journal of Food Microbiology*, 35 (3), 287-292
- 23) Schukken Y.H. (2008). Mastiti e ruolo dei patogeni emergenti. In *Atti 10° Congresso Nazionale SIVAR (9-10 Maggio)*, Cremona, 48