

INDAGINE SULLA PRESENZA DI MICRORGANISMI CONTAMINANTI IN ACQUE IMPIEGATE IN AZIENDE ZOOTECNICHE DA LATTE

Survey on the presence of contaminant bacteria in water used in dairy farms

Terrosu Giovanni*, Delogu Alida, Mura Elia, Noli Alessia Caterina, Porqueddu Giuseppina, Rossi Maria Lucia, Fadda Antonio

*Corresponding author. Tel: (+39) 079 2892352; Fax: (+39) 079 2892324. E-mail: Giovanni.terrosu@izs-sardegna.it

Dipartimento Igiene degli alimenti, Laboratorio Microbiologia del Latte e Derivati, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Sassari, Italia

ABSTRACT

Until now there are no specific laws about the characteristics of water used in primary production. The aim of this work is to verify water's quality used by farms in the primary production phase, particularly when the quality of water can influence food safety. From January 2009 to June 2012, 910 samples for Enterococci, *Escherichia coli* and Total Coliforms contamination, 738 samples for *Pseudomonas aeruginosa* contamination and 504 samples for Total Microbial Count at 22°C and 36°C contamination were analyzed on the occasion of the official control. Each sample was split up into rates of 100 ml, each of these filtrated on a cellulose membrane Milliflex® and isolated on selective medium specific for the different determinations. Regarding Enterococci, *E. coli* and Total Coliforms contamination, data point out a decrease of the percentage of samples whit values of >10 CFU/ml from 2009 to 2012. Also for *P. aeruginosa* a constant decrease of the percentage of positive samples can be noted.

Keywords: Primary Production, Water, Food Safety

INTRODUZIONE

Ad oggi non esistono norme specifiche relative alla qualità delle acque utilizzate nella fase di produzione primaria. In questo caso l'impiego di acqua può riguardare l'acqua di abbeverata, per il lavaggio dei ricoveri degli animali, per il lavaggio dei locali, delle attrezzature e degli utensili che possono venire a contatto diretto con l'alimento, quella utilizzata dal personale. Possono essere utilizzate acque distribuite da una rete esterna, che provengono da sorgenti naturali (superficiali o sotterranee) e depurate. La qualità delle acque impiegate nel ciclo produttivo è importante per garantire l'igiene delle produzioni alimentari (Fermani A.G. 2008). Il Regolamento CE 852/2004 ha introdotto anche per la produzione primaria l'utilizzo di acqua potabile o pulita in modo da prevenire la contaminazione, intendendo per acqua pulita quella priva di microrganismi o sostanze nocive in quantità tali da incidere direttamente o indirettamente sulla salubrità degli alimenti. Non essendo stati fissati parametri per la valutazione

dell'acqua pulita la sua qualità va rapportata alle sue modalità di utilizzo. Maggiore attenzione va rivolta quindi alle caratteristiche dell'acqua utilizzata per il lavaggio delle superfici che entrano in contatto con il latte e quelle destinate all'igiene del personale. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di verificare la qualità delle acque utilizzate nelle aziende nella fase della produzione primaria, con particolare riferimento a quelle situazioni in cui la qualità dell'acqua può influire direttamente sull'igiene del processo e sulla sicurezza dell'alimento.

MATERIALI E METODI

Tra il gennaio 2009 e il Giugno 2012 sono stati analizzati 910 campioni per la ricerca di Enterococchi, *E. coli* e Coliformi Totali, così distribuiti: 361 nel 2009, 220 nel 2010, 202 nel 2011 e 127 nei primi 6 mesi del 2012. Inoltre è stata svolta la ricerca di *P. aeruginosa* su 738 campioni e la valutazione della Carica Microbica Totale a 22°C e 36°C su 504 campioni. I campioni provenivano da aziende del territorio regionale della Sardegna. Il prelievo veniva ese-

guito facendo scorrere per qualche minuto l'acqua, successivamente il dispositivo di erogazione veniva chiuso e l'imboccatura sterilizzata tramite flambatura; si procedeva quindi al riempimento di beute sterili da 500/1000 ml. Il campione veniva trasportato all'Istituto Zooprofilattico della Sardegna a temperatura di refrigerazione e suddiviso in aliquote da 100 ml; ciascuna di queste veniva sottoposta a filtrazione su membrana di cellulosa Milliflex®, e seminata nel terreno di coltura agarizzato specifico per le differenti determinazioni. Per la numerazione di *E. coli* veniva utilizzato il terreno Triptone Bile X-Glucuronide, incubato a 44°C per 24 h. Per i Coliformi Totali si utilizzava m-Endo Agar Les, incubato a 36°C per 24 h; le colonie rosse con riflessi verde-metallico venivano sottoposte a conferma tramite test dell'ossidasi. Per la determinazione degli Enterococchi veniva impiegato terreno Slanetz and Bartley, incubato a 36°C per 24-48 h; le colonie che presentavano colore nero venivano confermate con la verifica dell'idrolisi dell'esculina. Per la ricerca di *P. aeruginosa* veniva impiegato il terreno *Pseudomonas* CN Agar incubandolo a 36°C per 24-48 h; in seguito veniva verificato il numero delle colonie verdi mentre quelle che presentavano fluorescenza alla lampada di Wood venivano sottoposte a prove biochimiche (API 20E® o Vittek®) per la conferma. Infine per il conteggio della Carica Microbica Totale veniva utilizzato il terreno Plate Count Agar, incubato alle temperature di 22°C e 36°C rispettivamente per 72 h e 48 h.

RISULTATI

Nella tabella 1 sono riportati i risultati della ricerca di Enterococchi, *E. coli* e Coliformi Totali suddivisi per classi e per anno. Dall'analisi dei dati si evidenzia una diminuzione, dal 2009 rispetto al 2012, della percentuale dei campioni riferiti alla classe 3 (>10 UFC/ml). Sempre dalla Tabella 1 si evidenzia, per tutti i microrganismi considerati, un aumento della percentuale dei campioni con valori ≤ 10 UFC/ml, particolarmente marcato per Enterococchi e Coliformi Totali. Inoltre dai dati si evince che per quanto riguarda Enterococchi ed *E. coli* i campioni negativi hanno un valore percentuale sempre superiore rispetto alle altre classi mentre i Coliformi Totali hanno sempre un valore percentuale di campioni appartenenti alla classe 3 marcatamente superiore rispetto agli altri microrganismi. Nel Grafico 1 sono riportati i risultati della ricerca di *P. aeruginosa* suddivisi per anno, e si è rilevata una costante e pronunciata diminuzione delle percentuali dei campioni positivi, che passano da un valore del 35,2% nel 2009 ad un valore del 17,6% nel 2012. I dati relativi alla

CMT a 22°C e 36°C, mostrano una tendenza alla diminuzione delle percentuali dei campioni che presentano valori >100 UFC/ml (45,1% nel 2009 e 36,6% nel 2012).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati si riferiscono sia alla presenza di *P. aeruginosa* sia alla presenza degli altri microrganismi considerati. *P. aeruginosa* può avere un ruolo di primo piano nella produzione di latte in azienda perché rappresenta un tipico contaminante veicolato dall'acqua e un agente di mastite particolarmente insidioso, capace di colonizzare gli impianti di mungitura dai quali, per la capacità di produrre biofilm e resistenza ai disinfettanti, risulta di difficile eliminazione. La sua presenza nell'acqua utilizzata per la pulizia dell'impianto di mungitura e per le attrezzature che vengono a contatto con il latte rappresenta quindi un problema soprattutto per la sanità degli animali in mungitura. Gli altri contaminanti sono rilevanti soprattutto dal punto di vista igienico, e se le CBT a 22°C e 36°C, insieme con i Coliformi Totali, rappresentano contaminanti ambientali di tipo generico, la presenza invece di *E. coli* e di Enterococchi ha un'importanza maggiore, rappresentando un indice specifico di contaminazione fecale. Nel periodo preso in esame i livelli di contaminazione sembrano avere avuto un'evoluzione, con un trend di miglioramento della qualità dell'acqua. Infatti il decremento dei livelli di contaminazione sembra indicare una maggiore attenzione delle aziende produttrici di latte verso la qualità delle acque utilizzate. Questo da quando i produttori, sulla spinta dei suggerimenti degli operatori di assistenza tecnica (veterinari e agronomi), hanno cominciato a considerare l'acqua come uno dei fattori più importanti per tenere lontani agenti di mastite come *P. aeruginosa* e contaminanti fecali come Enterococchi e *E. coli*, che abbassano la qualità igienica del latte. Inoltre, nei casi in cui il latte viene trasformato in minicaseifici aziendali per produzioni artigianali di formaggio, la qualità dell'acqua deve essere ancor più considerata, in quanto la normativa prevede l'utilizzo di acqua potabile e anche perché la presenza di questi contaminanti provoca notevoli perdite economiche dovute a difetti di prodotto che ne impediscono di fatto la vendita e in alcune situazioni particolari possono rappresentare anche un rischio sanitario per il consumatore.

BIBLIOGRAFIA

1. Fermani A.G. 2008. L'impiego delle acque nella produzione primaria. *Argomenti - Or-*

Tabella 1. Percentuale dei risultati delle analisi per la ricerca di microrganismi contaminanti suddivisi in classi e per anno

Percentuale dei risultati suddivisi in classi									
	Enterococchi			<i>E. coli</i>			Coliformi totali		
	% cl.1 ^a	% cl.2 ^b	% cl.3 ^c	% cl.1 ^a	% cl.2 ^b	% cl.3 ^c	% cl.1 ^a	% cl.2 ^b	% cl.3 ^c
2009	43,2	23,5	33,2	61,5	18,8	19,7	32,67	12,7	54,6
2010	48,6	26,4	25,0	55,9	18,2	25,9	43,2	8,6	48,2
2011	64,8	14,8	20,3	63,9	17,8	18,3	41,6	12,4	46,0
2012	52,0	33,9	14,2	59,1	23,6	17,3	35,4	25,2	39,4

^a classe 1: UFC/ml = 0. ^b classe 2: UFC/ml da 1 a 10. ^c classe 3: UFC/ml > 10

Grafico 1. Risultati della ricerca di *P. aeruginosa* suddivisi per anno