

Alimenti di malga

Come garantire la sicurezza

Aspetti microbiologici e strutturali delle malghe della Regione Veneto

di Anna Roccato*, Daniela Conte**, Lisa Barco***, Renzo Mioni**** e Antonia Ricci*****

* Ricercatrice, Struttura complessa "Analisi del rischio e Sistemi di sorveglianza in Sanità pubblica", Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie

** Dirigente veterinario, Azienda Ulss 3 di Bassano del Grappa, e referente del progetto "Produrre sicuro in malga"

*** Dirigente veterinario, Struttura complessa "Analisi del rischio e Sistemi di sorveglianza in Sanità pubblica", Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie

**** Direttore, Struttura complessa "Valorizzazione delle Produzioni alimentari", Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie

***** Direttore, Struttura complessa "Analisi del rischio e Sistemi di sorveglianza in Sanità pubblica", Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie

I risultati dei Piani di monitoraggio delle malghe della Regione Veneto mostrano come la corretta applicazione di buone pratiche di allevamento ed igieniche sia in grado di garantire prodotti sicuri

Le produzioni lattiero-casearie di malga, frutto di tradizioni secolari, sono sinonimo di tipicità e naturalità. Ciò nondimeno risulta fondamentale il controllo della loro qualità igienico-sanitaria, con l'intento di individuare i punti di maggiore criticità del processo produttivo e gli

eventuali rischi per il consumatore, a tutela del prodotto e della sicurezza alimentare.

Per quanto riguarda i formaggi, la loro contaminazione con microrganismi patogeni può avvenire a diversi livelli del processo produttivo. Tuttavia, le due principali fonti di contagio sono rappresentate dal latte crudo e dalle procedure di manipolazione e lavorazione adottate.

I principali pericoli microbiologici identificati nei formaggi sono: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* produttore di verocitotossine (VTEC) e le enterotossine stafilococche prodotte da alcuni ceppi di *Staphylococcus aureus*¹. L'analisi della letteratura evidenzia che,

¹ Kousta, M., et al. (2010). *Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels*. Food Control, vol. 21, pp. 805-815.

nei formaggi, la prevalenza dei primi tre agenti patogeni citati si attesta su livelli inferiori all'1%, mentre *Staphylococcus aureus*, microrganismo del gruppo degli stafilococchi coagulasi positivi (CPS) e principale agente di mastite subclinica nel bovino, è frequentemente isolato in quelli vaccini², sebbene la prevalenza di enterotossine stafilococciche nei formaggi sia piuttosto contenuta (0,6%)³.

Il regolamento (CE) 2073/2005 indica una contaminazione di CPS superiore a 10^5 ufc/g quale limite per ricercare le enterotossine stafilococciche; tuttavia, non è ancora stato possibile stabilire una relazione lineare tra la carica batterica e la produzione di enterotossina, produzione influenzata da numerosi fattori quali la concentrazione di NaCl, il pH e la temperatura⁴.

Il contesto produttivo della malga è intrinsecamente fragile per l'assenza di standardizzazione sia dell'ambiente di allevamento che del processo produttivo

Il contesto produttivo della malga è intrinsecamente fragile per l'assenza di standardizzazione sia dell'ambiente di allevamento che del processo produttivo, presentando caratteristiche strutturali e operative tali da aumentare i rischi microbiologici associati al prodotto finito. Ne deriva, pertanto, la necessità di attuare una prevenzione mirata dei pericoli microbiologici, basata sull'analisi del rischio. A tal fine, a partire dal

2012 la Regione Veneto ha sviluppato e finanziato un Piano di monitoraggio pluriennale delle malghe presenti sul suo territorio con i seguenti obiettivi:

- monitorare i criteri di sicurezza alimentare ed igiene del processo produttivo di questi prodotti a filiera corta;
- studiare le caratteristiche manageriali-strutturali che possono fungere da fattori di rischio;
- elaborare manuali di Buone pratiche igieniche (Bpi) e Buone pratiche operative (Bpo).

Materiali e metodi

Il progetto della Regione Veneto ha per oggetto di studio le malghe che effettuavano la lavorazione e la trasformazione del latte crudo. Il Piano di monitoraggio è stato svolto durante la stagione di alpeggio, da giugno a settembre, nel periodo 2012-2015.

I campioni sono stati trasportati a temperatura di refrigerazione ed analizzati presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie. In *Tabella 1* sono riportate le matrici campionate, il microrganismo ricercato, il metodo analitico utilizzato ed il limite considerato per definire il campione come conforme o meno.

Nel corso del Piano di monitoraggio 2012, inoltre, è stato somministrato un questionario, volto a raccogliere informazioni sulle caratteristiche strutturali e manageriali delle malghe, inerenti a:

- dati generali relativi al campionamento;
- provenienza della mandria e sua alimentazione;
- modalità di mungitura e gestione del latte raccolto;
- lavorazione del latte (*Tabella 2*).

² Cremonesi, P., Perez, G., Pisoni, G., Moroni, P., Morandi, S., Luzzana, M., Brasca, M., Castiglioni, B. (2007). *Detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolates in raw milk cheese*. Letters in Applied Microbiology, vol. 45, pp. 586-591.

³ Prencipe, V., Migliorati, G., Matteucci, O., Calistri, P. Di Giannatale, E. (2010). *Assessment of hygienic quality of some types of cheese sampled from retail outlets*. Veterinaria Italiana, vol. 46 (2), pp. 233-242.

⁴ Meyrand, A., Vernoy-Rozand, C., Gonthier, A., Mazuy, C., Ray-Gueniot, S., Jaubert, G., Perrin, G., Lapeyre, C., Richard, Y. (1999). *Main differences in behavior and enterotoxin production of Staphylococcus aureus in two different raw milk cheeses*. Revue de Medecine Veterinaire, vol. 150, pp. 271-278.

Tabella 1

Piano di campionamento pluriennale (2012-2015): matrici campionate, analisi effettuate, metodiche d'analisi impiegate e limiti di legge

MATRICE	ANALISI	METODO	LIMITI
Latte massa	Conta CPS (stafilococchi coagulasi positivi)	ISO 6882-2:1999 (Amd 1:2003)	≤ 2.000 ufc/ml
Formaggio/burro/ricotta	Ricerca di <i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-1:1996 (Amd 1:2004)	Assente in 25 g
	Conta di <i>E. coli</i> in formaggio	ISO 16649-2:2001	100-1.000 ufc/g
	Conta di <i>E. coli</i> in burro e ricotta	ISO 16649-2:2001	10-100 ufc/g 10^4 - 10^5 ufc/g
	Conta CPS e ricerca di enterotossina	ISO 6882-2:1999 (Amd 1:2003)	se CPS $>10^5$ ufc/g ricerca enterotossina (kit Vidas)
Superfici	Ricerca di <i>Listeria monocytogenes</i> (fascera)	ISO 11290-1:1996 (Amd 1:2004)	Assente
	Conta di <i>E. coli</i> (caldaia)	ISO 16649-2:2001	< 10 ufc/cm ²

Tabella 2

Questionario sulle caratteristiche strutturali e manageriali delle malghe: sezioni e variabili considerate

SEZIONE	VARIABILI
Dati generali	Tipologia di campioni prelevati.
Dati della malga/Alimentazione animale	Numero di animali per categoria, razze alpeggiate, provenienza della mandria, produzione media giornaliera, integrazione della dieta foraggera, tipologia di approvvigionamento idrico delle vacche.
Mungitura	Disinfezione dei locali prima della monticazione, numero e tipologia di addetti alla mungitura, modalità di mungitura e pulizia della mammella pre-mungitura, rimozione dei primi getti di latte pre-mungitura, sanificazione della mammella post-mungitura, modalità di conservazione del latte, detergenti/disinfettanti impiegati per la sanificazione di locali/attrezzature.
Lavorazione del latte	Formazione del personale addetto alla manipolazione degli alimenti, fonte dell'approvvigionamento idrico, presenza di analisi di controllo dell'acqua, del sistema di depurazione dell'acqua, di un lavandino, un detergente e un asciugamano nei locali di lavorazione del latte, impiego di innesti, tipologia di salatura e di prodotti preparati presso la malga.
Note/Osservazioni	Campo aperto.



Il contesto produttivo della malga presenta caratteristiche strutturali e operative tali da aumentare i rischi microbiologici associati al prodotto finito.

I dati relativi sia alle analisi microbiologiche che alle variabili del questionario sono stati elaborati con l'obiettivo di individuare quali caratteristiche descrittive del questionario fossero statisticamente significative ($p\text{-value} < 0,1$) per la presenza di CPS (> 2.000 ufc/ml) nel latte crudo.

Infine, è stato condotto un modello multivariato di regressione logistica per individuare l'effetto contemporaneo delle variabili evidenziate sul livello di contaminazione da CPS.

Risultati e discussione

Dall'anno 2012 al 2015 sono state campionate 336 malghe dei distretti delle Asl di Belluno, Feltre, Bassano del Grappa, Vicenza, Treviso e Verona.

L'attenzione dei Piani di monitoraggio, inizialmente focalizzata sul campionamento del latte

crudo in alpeggio, nel corso del tempo si è spostata sui prodotti della lavorazione, formaggio, burro e ricotta, e sull'ambiente di lavorazione, per un totale di 864 campioni esaminati.

Per quanto riguarda la matrice latte crudo, sono stati analizzati 370 campioni per la quantificazione di CPS: la percentuale di campioni con quantità > 2.000 ufc/ml è risultata compresa tra il 6 e l'11%. Inoltre, è stata registrata una quantità di CPS ≤ 500 ufc/ml (Figura 1) in una percentuale di campioni di latte analizzati che va dal 70 ad oltre il 90%. La presenza di CPS nel latte crudo è legata allo stato sanitario della mammella delle bovine in lattazione. Uno studio condotto presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie nel 2004 mostra come la percentuale di campioni di latte crudo con quantità di CPS > 2.000 ufc/ml sia passata dal 4,6% prima dell'alpeggio al 19% durante l'alpeggio. Ne deriva che, in malga, il contatto tra animali provenienti

Figura 1
Stafilococchi coagulasi positivi nel latte crudo (ufc/ml): prevalenza suddivisa per classe di quantità e anno di campionamento

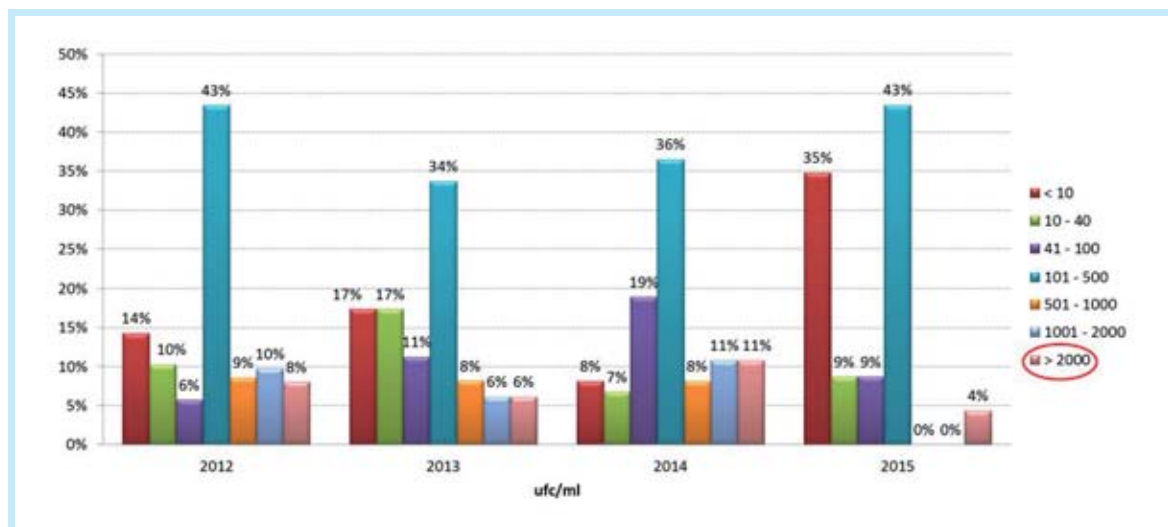
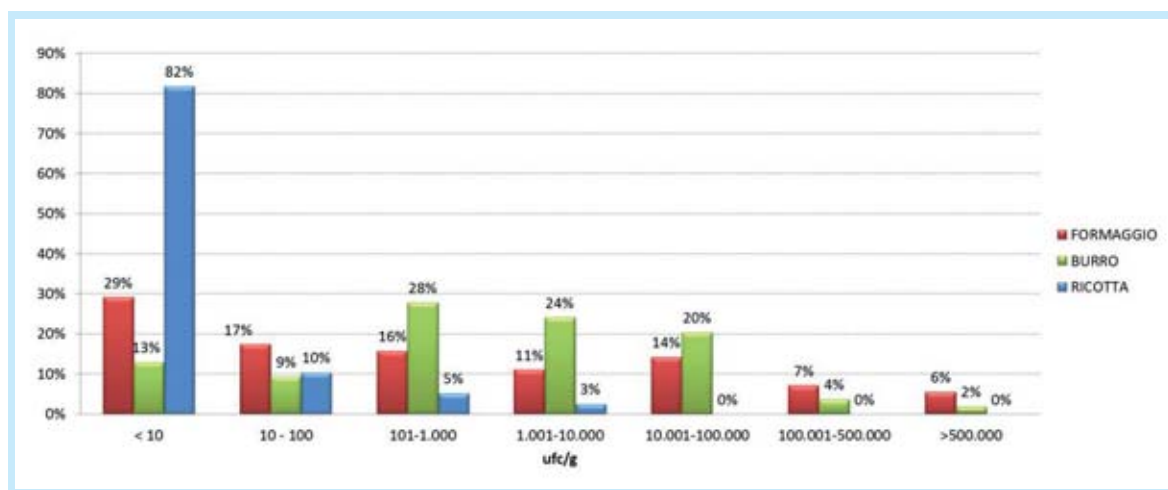


Figura 2
Stafilococchi coagulasi positivi in formaggio, burro e ricotta (ufc/g): prevalenza suddivisa per classe di quantità



da diverse aziende e le condizioni igieniche, a volte precarie, dell'allevamento e della mungitura possono favorire il presentarsi e il diffondersi di processi infiammatori a carico della mammella, di cui gli agenti eziologici maggiormente coinvolti sono gli CPS.

Nel caso dei prodotti lattiero-caseari (Figura 2), il 13% dei formaggi ed il 6% del burro analizzati hanno fatto registrare una quantità di CPS > 100.000 ufc/g. Tuttavia, l'enterotossina stafilococcica ricercata in 233 campioni (Tabella 3) è stata rilevata in un solo campione di formaggio

Figura 3
Escherichia coli in formaggio, burro e ricotta (ufc/g): prevalenza suddivisa per classe di quantità

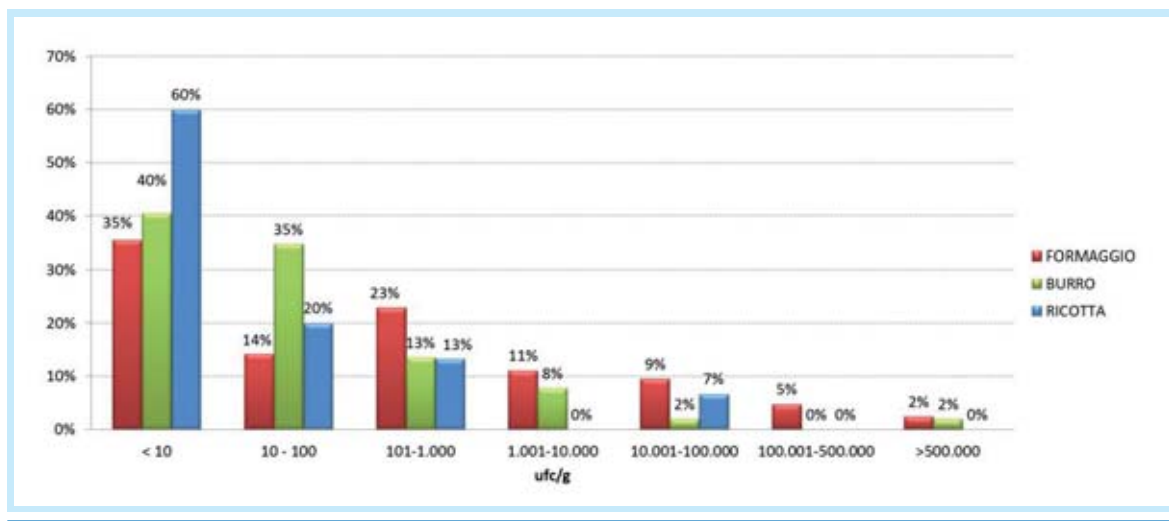


Tabella 3
Ricerca di enterotossina stafilococcica:
numero di campioni analizzati
per matrice alimentare

MATRICE	NUMERO ANALISI
Burro	88
Formaggio	76
Panna	1
Ricotta	68
Totale complessivo	233

Tabella 4
Ricerca di *Listeria monocytogenes*: numero
di analisi eseguite per matrice alimentare

MATRICE	NUMERO ANALISI
Burro	53
Formaggio	119
Panna	1
Yogurt	2
Ricotta	16
Totale complessivo	191

(CPS pari a 490.000 ufc/g). Poiché l'enterotossina, una volta formata, è in grado di permanere nel prodotto anche per anni, prolungare il periodo di stagionatura quale strategia di sanificazione del prodotto non risulta uno strumento efficace.

La ricerca di *E. coli* (Figura 3) nei prodotti lattiero-caseari, quale indicatore di igiene in fase di manipolazione e lavorazione del latte e di possibile contaminazione fecale del prodotto, ha evidenziato una quantità di questo microrganismo superiore a 1.000 ufc/g nel 27% dei formaggi e superiore a 100 ufc/g rispettivamente nel 25% dei campioni di burro e nel 19% dei campioni di ricotta.

Per quanto riguarda la ricerca di *L. monocytogenes*, sono stati analizzati 191 campioni di prodotti lattiero-caseari, 119 dei quali rappresentati da formaggi (Tabella 4). Il patogeno è stato isolato in otto campioni analizzati, di cui 5 costituiti da burro, relativi a 6 produttori. Nel caso di un produttore (A) *L. monocytogenes* è stata isolata da tutti i prodotti lattiero-caseari campionati (burro e formaggio) (Tabella 5).

A partire dall'anno di monitoraggio 2014, sono state prelevate le spugnette ambientali al fine di rilevare la possibile presenza di *L. monocytogenes* sulle fascere per formaggio e di procedere alla conta di *E. coli* sulla caliera. I risultati hanno de-

Tabella 5
***Listeria monocytogenes*: dettaglio campioni positivi**

MATRICE	MALGA	RICERCA <i>L. MONOCYTOGENES</i>	CONTA <i>L. MONOCYTOGENES</i> (ufc/g)
Burro	A	Presenza	< 10
Burro	A	Presenza	920
Burro	B	Presenza	< 10
Burro	C	Presenza	< 10
Burro	D	Presenza	< 10
Formaggio	A	Presenza	< 10
Formaggio	E	Presenza	< 10
Ricotta	F	Presenza	< 10

notato una buona applicazione delle procedure di sanificazione delle superfici: *L. monocytogenes* è stata isolata da 2 spugnette sulle 120 campionate e i campioni positivi provenivano dalle malghe sopra menzionate, per le quali la presenza di *L. monocytogenes* è stata confermata anche in campioni di burro, formaggio e ricotta.

L'analisi dei dati raccolti tramite il questionario sulle caratteristiche strutturali e manageriali somministrato a 81 malghe, ha permesso, infine, di individuare le variabili significative per un livello di CPS > 2.000 ufc/ml nel latte crudo. Nello specifico, le variabili risultate significative sono state: la provenienza della mandria (p-value: 0.06) e la modalità di conservazione del latte (p-value: 0.04). Il calcolo della *odds ratio*⁵ ha messo in evidenza l'esistenza di rischio sette volte più elevato di avere campioni di latte positivi per CPS nel caso di animali all'alpeggio provenienti da più allevamenti rispetto che da un solo allevamento. Lo stesso rischio, inoltre, diventa circa 5 volte più elevato qualora per la conservazione del latte si utilizzino bidoni a temperatura ambiente piuttosto che un *tank* refrigerato.

Conclusioni

I risultati del Piano di monitoraggio delle malghe della Regione Veneto mostrano una situazione

complessivamente adeguata per quanto riguarda gli aspetti igienico-sanitari dei prodotti. Si evidenziano, tuttavia, alcune carenze nel Sistema di gestione.

Allevare degli animali e svolgere attività di caseificazione in malga richiede un impegno maggiore per l'applicazione costante di corrette pratiche di allevamento e produzione, al fine di ottenere alimenti sicuri

I dati raccolti sono in linea con i Piani di monitoraggio condotti in altre Regioni limitrofe. La Regione Lombardia ha effettuato, dal 2012 al 2014, Piani di campionamento nei caseifici degli alpeggi mirati a valutare la qualità igienica dei prodotti a base di latte dai quali emerge come nel latte crudo (183 campioni) la prevalenza di CPS > 10⁵ ufc/ml si attesti tra il 3 e l'11%, mentre per quanto riguarda i prodotti lattiero-caseari, formaggio (273 campioni), burro (121 campioni) e ricotta (65 campioni), è stata evidenziata

⁵ In epidemiologia, l'*odds ratio* è uno degli indici utilizzati per definire il rapporto di causa-effetto tra due fattori.

nel formaggio una positività per *Salmonella* spp. e due non conformità per il riscontro di geni codificanti *Escherichia coli* VTEC. Tra i germi indicatori di igiene di processo sono stati evidenziati 10 campioni (7 di formaggio e 3 di burro) con tenori di *Enterobacteriaceae* $>10^5$ ufc/g e 8 campioni (6 di formaggio e 2 di burro) con una quantità di CPS $>10^5$ ufc/g, livello di contaminazione considerato potenzialmente a rischio per la produzione di tossina stafilococcica, che però non è mai stata isolata.

La Regione Friuli Venezia Giulia dal 2011 ha avviato un percorso che definisce le modalità di produzione e di vendita in ambito locale di piccoli quantitativi di prodotti a base di latte nell'ambito dell'attività di alpeggio (progetto PPL). Nel corso dell'anno 2014, 17 malghe sono rientrate nel progetto PPL. Il campionamento condotto ha fatto rilevare una positività per enterotossine stafilococciche in un formaggio di 41 giorni con carica di CPS pari a 770.000 ufc/g. Questi risultati evidenziano come le condizioni sanitarie delle mandrie, quelle igieniche della mungitura, della conservazione e della lavorazione del latte nonché della manipolazione del prodotto possano favorire la crescita di microrganismi,

costituendo punti critici per la sicurezza igienico-sanitaria degli alimenti. Ne deriva che allevare degli animali e svolgere attività di caseificazione in malga richiede un impegno maggiore per l'applicazione costante di corrette pratiche di allevamento e produzione, al fine di ottenere alimenti sicuri.

Ringraziamenti

Per aver creduto nella validità e necessità del progetto si ringraziano i dirigenti veterinari Alessandra Amorena e Giorgio Cester della Sezione veterinaria e Sicurezza alimentare della Regione Veneto.

Per il loro fondamentale contributo nell'esecuzione dei Piani di monitoraggio sul territorio e per la preziosa e proficua collaborazione prestata si ringraziano i veterinari ed i tecnici della prevenzione: Giancarlo Acerbi, Nicola Benini, Patrizia Bragagna, Giuseppe Camerotto, Paolo Dalla Costa, Gianluca Diquattro, Lucio Maculan, Marcello Malacarne, Maurizio Maragno, Paolo Mosele, Norberto Righetto, Emanuela Rudatis, Giorgio Tambalo.

Bibliografia e sitografia

- Cremonesi, P., Perez, G., Pisoni, G., Moroni, P., Morandi, S., Luzzana, M., Brasca, M., Castiglioni, B. (2007). *Detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolates in raw milk cheese*. Letters in Applied Microbiology, vol. 45, pp. 586-591.
- Gomez, L. E., Goyache, J., Orden, J.A., Domenech, A., Hernandez, F.J., Ruiz-Santa Quiteri, a J.A., Lopez, B., Blanco, J.L., Suarez, G. (1992). *Growth of Staphylococcus aureus and synthesis of enterotoxin during ripening of experimental Manchego-type cheese*. Journal of Dairy Science, vol. 75, pp. 19-26.
- Kousta, M., et al. (2010). *Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels*. Food Control, vol. 21, pp. 805-815.
- Meyrand, A., Vernozzy-Rozand, C., Gonthier, A., Mazuy, C., Ray-Gueniot, S., Jaubert, G., Perrin, G., Lapeyre, C., Richard, Y. (1999). *Main differences in behavior and enterotoxin production of Staphylococcus aureus in two different raw milk cheeses*. Revue de Medecine Veterinaire, vol. 150, pp. 271-278.
- Otero, A., Garcia, M.C., Garcia, M.L., Santos, J.A., Moreno, B. (1993). *Behaviour of Staphylococcus aureus strains FRI 137 and FRI 361 during the manufacture and ripening of manchego cheese*. International Dairy Journal, vol. 3, pp. 85-96.
- Piano di controllo sulla qualità igienica dei prodotti a base di latte ottenuti nei caseifici degli alpeggi della Regione Lombardia 2012-2014, disponibile su: <http://www.salute.gov.it/relazioneAnnuale2014/dettaglioRA2014.jsp?cap=capitolo3b&sez=ra14-3b-8id=414>
- Prencipe, V., Migliorati, G., Matteucci, O., Calistri, P. Di Giannatale, E. (2010). *Assessment of hygienic quality of some types of cheese sampled from retail outlets*. Veterinaria Italiana, vol. 46 (2), pp. 233-242.