

I microrganismi e gli alimenti

M. Zavanella

Brescia

Generalità

Batteri, muffe e lieviti

Le malattie di origine alimentare

Fonti di contaminazione - Proprietà dei microrganismi a provocare malattie - Le misure preventive

Tossinfezioni alimentari, intossicazioni, infezioni

Salmonella - Shigella - Escherichia coli - Yersinia enterocolitica - Vibrio cholerae - Vibrioni alofili - Aeromonas e Plesiomonas - Campylobacter - Clostridium botulinum - Clostridium perfringens - Bacillus cereus - Staphylococcus aureus - Listeria monocytogenes - Brucella - Tossine diverse

Deterioramento degli alimenti

Vegetali - Formaggi - Carne - Salumi - Uova - Prodotti ittici - Bevande

Conservazione degli alimenti

Trattamenti fisici, chimici, biologici - I batteri lattici

I batteri negli alimenti e nelle acque

Latte - Derivati del latte (burro, yogurt, kefir, formaggi) - Carni - Salumi - Uova ed ovo-prodotti - Prodotti ittici - Gelati - Paste alimentari - Prodotti di gastronomia - Semiconserve - Conserve - Vegetali - Prodotti di pasticceria - Alimenti per la prima infanzia - Dietetici - Bevande - Acque (potabile, minerali)

Igiene nella produzione degli alimenti

Requisiti igienici, controlli di laboratorio, HACCP, metodi d'analisi, valutazione dei risultati

Norme igieniche da osservare dopo la produzione

Educazione del consumatore

Bibliografia

Generalità

Questa sintesi tratta alcuni aspetti della convivenza, inevitabile in natura, tra microrganismi e alimenti, con particolare riguardo a quelli di origine animale.

Per microrganismi qui si intendono i batteri e i miceti (muffe + lieviti). Non vengono presi in considerazione i virus e i parassiti.

Le specie batteriche più diffuse negli alimenti sono riportate nella seguente tabella 1:

Tabella 1. Specie batteriche più diffuse negli alimenti

batteri gram-negativi	aerobi	<i>Acetobacter, Acinetobacter, Brucella, Flavobacterium, Moraxella, Pseudomonas, Xantomonas</i>
	microaerofili	<i>Campylobacter</i>
	anaerobi facoltativi	<i>E.coli, Klebsiella, Proteus, Salmonella, Shigella, Serratia, Yersinia, Vibrio, Plesiomonas, Aeromonas</i>
batteri gram-positivi	aerobi facoltativi	<i>Brochothrix, Listeria</i>
	anaerobi aerotolleranti	<i>Lactobacillus</i>
cocchi gram-positivi	aerobi	<i>Micrococcus</i>
	microaerofili aerobi	<i>Aerococcus</i>
	anaerobi facoltativi	<i>Staphylococcus</i>
	anaerobi aerotolleranti	<i>Streptococcus, Pediococcus, Leuconostoc, Enterococcus, Lactococcus</i>
	anaerobi	<i>Sarcina</i>
batteri corineformi	aerobi	<i>Corynebacterium, Brevibacterium, Mycobacterium</i>
	anaerobi facoltativi	<i>Propionibacterium</i>
	anaerobi	<i>Bifidobacterium</i>
batteri gram-positivi sporigeni	aerobi/anaerobi facoltativi	<i>Bacillus cereus</i>
gruppi particolari	anaerobi	<i>Clostridium (perfringens, botulinum)</i>
	aerobi	<i>Halococcus, Halobacterium</i>
	ospiti cellulari obbligati	<i>Rickettsie (Coxiella burnetii)</i>

I miceti

Si differenziano dai batteri perchè hanno un nucleo cellulare e pertanto appartengono agli Eucarioti. Il loro corpo vegetativo si chiama micelio ed è formato da filamenti (le ife). Si chiamano genericamente funghi.

La loro classificazione prevede la distinzione tra muffe e lieviti.

Le muffe

Si riproducono attraverso spore, riunite in corpi chiamati conidi (come nel caso di *Aspergillus* e *Penicillium*) o in sporangi (come nel caso di *Mucor* e *Rhizopus*).

Le muffe sono prevalentemente aerobie e si svilup-

pano sulla superficie dei substrati contaminati. Sopravvivono meglio dei batteri a condizioni estreme (pH, Aw, basse temperature). Possono elaborare sostanze pericolose per l' uomo (aflatossine e altre ammine biogene).

I lieviti

Sono funghi unicellulari. Sviluppano non solo in aerobiosi, ma anche in presenza di etanolo o anidride carbonica. Si riproducono per gemmazione.

Alcuni lieviti formano un micelio. Resistono a valori estremi di pH (da 3 a 11) e di temperatura (da 0 a 45°C). Alcuni lieviti si moltiplicano esclusivamente in ambiente fortemente zuccherino, altri in presenza di abbondante sale.

Tra i più importanti lieviti negli alimenti si trovano *Saccharomyces* (*S.cerevisiae* = lievito della birra) e *Candida* (*C.albicans* = lievito potenzialmente patogeno).

Le malattie di origine alimentare

Gli alimenti possono provocare forme tossiche quando contengono le seguenti sostanze in quantità sufficienti a determinare un quadro clinico:

- farmaci o stimolatori di crescita presenti nella carne e suoi derivati
- pesticidi, metalli pesanti, idrocarburi clorurati presenti nelle piante o negli animali
- conservanti non consentiti (come antibiotici, sodio azide, ecc)
- detergenti e disinfettanti
- tossine animali e vegetali
- parassiti
- microrganismi (batteri, funghi, virus)

Fonti di contaminazione

Possono esistere fonti di contaminazione primaria (come la contaminazione degli animali infetti) e di contaminazione secondaria, principalmente rappresentate da feci umane o animali, da mucose, capelli e ferite infette, da terriccio, polvere (come avviene per i germi del botulismo).

Proprietà dei microrganismi a provocare malattia

I microrganismi possono mantenere la propria infettività nell'alimento, moltiplicarsi, produrre tossine, attaccarsi alle cellule dell'ospite (adesività), diffondere nei tessuti (invasività).

Le **infezioni alimentari** sono provocate da microrganismi invasivi che raggiungono le cellule sensibili dell'ospite attraverso cibi inquinati (come il latte crudo o l'acqua).

Tra questi germi si ricordano *M.tuberculosis*, *Brucella*, *Listeria monocytogenes*.

I germi invasivi provocano infiammazioni localizzate oppure infezioni sistemiche generalizzate, che comportano la diffusione per via ematica, la febbre e la formazione di anticorpi.

Le **intossicazioni alimentari** sono provocate da tossine esterne al microrganismo (esotossine) che agiscono indipendentemente dalla presenza del germe (es. *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*).

Le **tossinfezioni alimentari** prevedono la presenza del germe e della sua tossina, come per i batteri gram-negativi (ad es. le Salmonelle) che possiedono

endotossine di origine polisaccaridica e lipidica; dopo la morte della cellula batterica le endotossine vengono liberate e si ha diarrea, febbre, ipotensione e altri disturbi.

I batteri gram-positivi (come lo *Staphylococcus aureus* o il *Clostridium botulinum*) formano delle esotossine che si localizzano nell'intestino o nel sistema nervoso. Alcune esotossine sono relativamente resistenti al calore.

Per avere malattia o intossicazione è necessario che si presentino alcune condizioni (virulenza del microrganismo, carica microbica, reazione difensiva dell'uomo, condizioni esterne).

- 1- la **virulenza** è la capacità specifica con cui un agente patogeno scatena la malattia.
- 2- la **dose** infettante è la quantità minima di patogeno in grado di causare la malattia (per la *Salmonella* si ritiene occorrono più di 100 cellule, per il *B.cereus* 10.000, per il *Cl.perfringens* un milione).
- 3- le **reazioni difensive** dell'uomo sono costituite dalle mucose, dal succo gastrico, dalla flora intestinale, dal sistema immunitario. I fattori predisponenti sono costituiti dall'età (bambini e anziani sono gli individui più a rischio), dalle malattie, dalla denutrizione, dai trattamenti farmacologici, dalle variazioni climatiche. Alcuni microrganismi saprofiti possono diventare patogeni occasionalmente (come *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*).
- 4- le **condizioni esterne** comprendono la concentrazione delle produzioni alimentari, la ristorazione collettiva, il turismo. Le cause principali sono però legate alla cottura insufficiente, al mancato mantenimento dei cibi cotti a temperatura adeguata, cioè in frigorifero sotto i +4°C o in scaldavivande sopra i +65°C, alla scarsa igiene nelle cucine con conseguenti contaminazioni crociate tra alimenti crudi inquinati e cibi cotti pronti per il consumo.

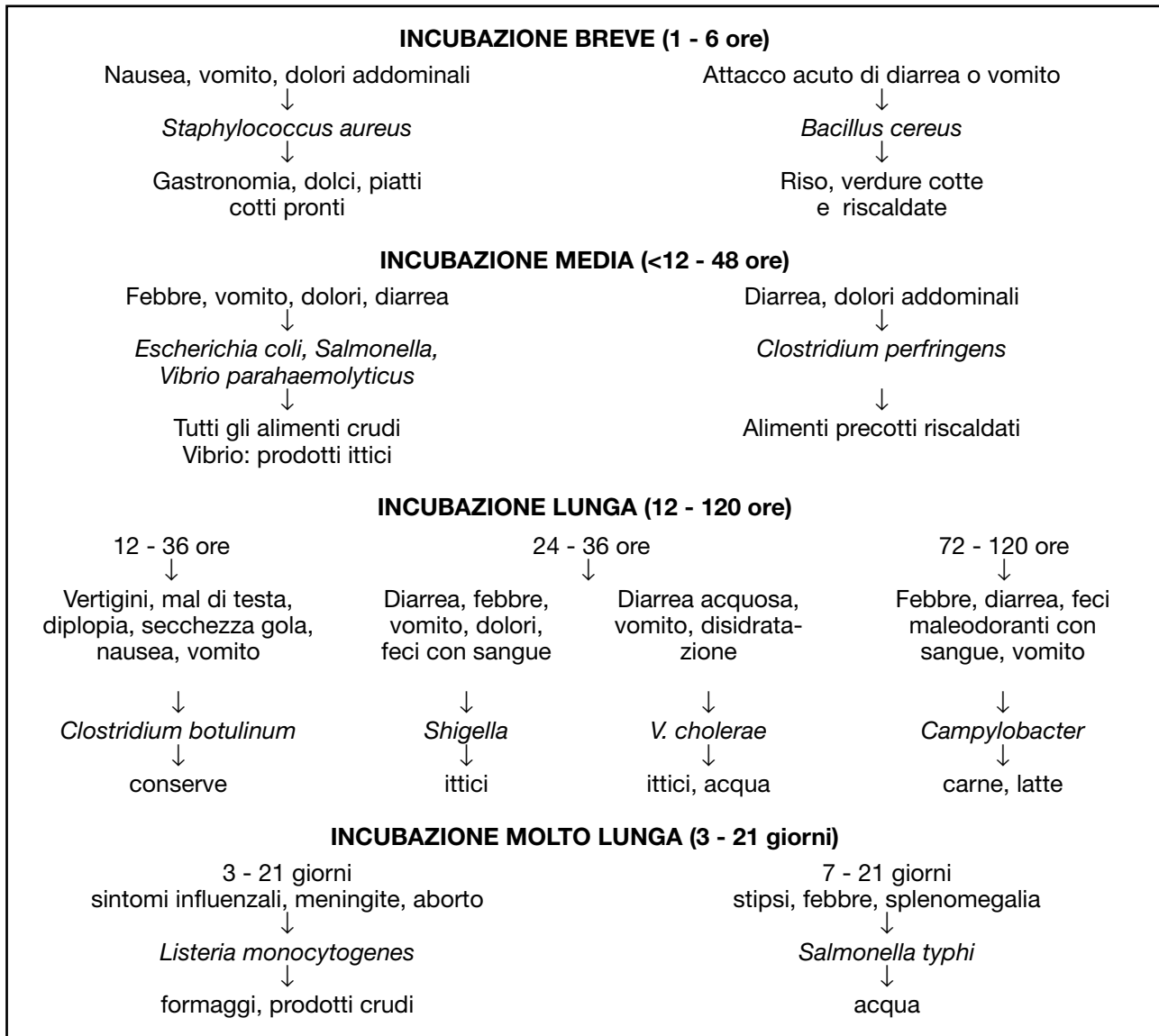
Le misure preventive

Sono quattro i momenti da controllare:

- la salubrità dell'allevamento (nel caso di produzioni di animali da carne, latte, ecc)
- le contaminazioni crociate
- il trattamento termico (cottura, pasteurizzazione, sterilizzazione)
- la conservazione dell'alimento pronto (refrigerazione, congelamento, riscaldamento sopra i +65°C)

Tossinfezioni alimentari, intossicazioni, infezioni

Tabella 2. Principali agenti eziologici di infezioni, intossicazioni, tossinfezioni alimentari divisi per tempo d'incubazione, sintomatologia, alimenti più frequenti



Tossinfezione da salmonelle

Le Salmonelle hanno un optimum di crescita a 37°C, si riproducono sopra i 7°C, non sopravvivono alla pasteurizzazione.

Sono veicolate da alimenti animali e vegetali. Tra questi il pollame, i maiali, la selvaggina, i vitelli. Il ciclo di diffusione può iniziare dai mangimi contaminati e proseguire negli allevamenti, nei macelli (attraverso la rottura dell'intestino e la contaminazione fecale delle carni o dalla spennatura dei volatili).

Altre fonti di contaminazione sono i molluschi, le verdure irrigate con liquami, le uova e i derivati delle uova (come creme crude e maionese), gli insac-

cati non stagionati. Gli elementi comuni sono sempre la mancata cottura, la contaminazione crudo-cotto, la conservazione a insufficiente temperatura.

La gastroenterite da Salmonelle si manifesta dopo 24-48 ore d' incubazione con diarrea, febbre e si comporta da tossinfezione poichè i germi producono un' enterotossina termolabile. Sono possibili complicazioni come infezioni generalizzate negli individui a rischio (bambini e anziani). L' eliminazione delle Salmonelle attraverso le feci o le urine può durare per alcune settimane e costituisce il fattore di rischio del cosiddetto "portatore".

Un caso a parte è rappresentato dalla *Salmonella typhi* che provoca il tifo addominale, per il quale bastano poche cellule infettanti (100 -1000), la fonte è l'uomo, l'incubazione è di due settimane, il quadro clinico è grave (febbre a 40°C, interessamento del fegato e della milza), si formano anticorpi circolanti e lo stato di portatore può durare anni o tutta la vita. Negli altri casi la salmonellosi è solitamente un' infezione localizzata all'intestino e non provoca immunizzazione. La diagnosi viene fatta attraverso esami di laboratorio su feci, tamponi, alimenti.

Nel caso di feci o tamponi si usa un arricchimento in terreno liquido (brodo tetrionato, Rappaport, brodo selenito) per 24-48 ore a 37°C o a 42°C seguito da piastratura su terreni selettivi solidi (Hektoen, SS, BGA) da incubare a 37°C per 24 ore, trapianto delle colonie sospette su Kligler, identificazione biochimica e sierologica (tipizzazione in oltre 2000 sierotipi riuniti nello schema di Kauffmann-White secondo le combinazioni di antigeni somatici O e citiari H).

Nel caso di alimenti si introduce il campione (25 gr) in pre-arricchimento (acqua peptonata tamponata in rapporto 1: 10) e si omogenizza. Dopo incubazione a 37°C per 18-24 ore si trapianta in arricchimento come sopra descritto.

Tossinfezioni da *Shigella*

In Europa si tratta prevalentemente di *S. sonnei* e *flexneri*. In altre parti del mondo si trovano *S. boydii* e *S. dysenteriae*.

Sono patogeni solo per l'uomo. La fonte è costituita dalle feci umane. Il contagio si trasmette da uomo a uomo anche a mezzo di oggetti, stoviglie, cibi contaminati o attraverso le mosche.

La via d'ingresso è la bocca. Il luogo di moltiplicazione è l'intestino crasso. L'incubazione dura 2-7 giorni. Provocano diarrea e talvolta complicazioni per la formazione di un'endotossina e di una esotossina (ulcerazioni della mucosa intestinale, peritonite).

La risposta immunitaria è scarsa e la diagnosi di laboratorio avviene dalle feci.

Le Shigelle sono germi gram-negativi, immobili, lattosio negativi, simili alle Salmonelle per esigenze colturali. Si usano gli stessi terreni delle Salmonelle. La *S. sonnei* è patogena in fase liscia (S) e muta rapidamente in fase rugosa (R) non patogena.

Malattie da *Escherichia coli*

L' *E. coli* è un patogeno facoltativo che alberga normalmente nell'intestino dell'uomo e degli animali. In caso di indebolimento nei bambini e negli anziani può provocare malattie diverse (infezioni delle vie

urinarie, biliari, peritoniti, meningiti, polmoniti, sepsi, diarreie dissenteriche).

La virulenza dei ceppi è legata alla proprietà adesiva del germe (attraverso fimbrie) e alla proprietà invasiva. Vengono prodotte delle tossine.

ENTERITE DEI LATTANTI

È legata a ceppi enteroinvasivi (EIEC) e si trasmette con il latte e l'alimentazione.

DIARREA DEI VIAGGIATORI

Avviene attraverso acqua, verdure, alimenti contaminati da feci.

I ceppi che la provocano (detti ETEC) sono comuni all'uomo e agli animali giovani (vitelli, suinetti) e si fissano sulla mucosa del tenue con fimbrie o pili (proprietà adesiva) riuscendo a penetrare nelle cellule della mucosa (proprietà invasiva).

Producono due tipi di tossine (termostabile = ST e termolabile = LT). Le tossine stimolano l'adenilciclasi con perdita di liquidi dalla mucosa intestinale e diarrea.

La diagnosi di laboratorio dei ceppi produttori di tossina ST ed LT può essere effettuata con metodi immunoenzimatici (ELISA o Reverse Passive Agglutination Test).

INFEZIONI DA *E. COLI* ENTEROEMORRAGICI

Si tratta di particolari sierotipi detti EHEC, tra i quali O157:H7, isolati da casi di colite emorragica e da sindrome emolitico-uremica (HUS) che sarebbero legati a carni, latte ed altri alimenti.

La diagnosi di laboratorio si avvale di particolari terreni, poichè questo germe sviluppa meglio a 37°C (e non a 44°C come i rimanenti *E. coli*) e non attacca i glucuronidi (non è fluorescente sui terreni che li contengono).

Tossinfezioni da *Yersinia enterocolitica*

È un germe psicrofilo (può sviluppare a temperatura di frigorifero) e proviene dalle feci dell'uomo e degli animali. È un batterio gram-negativo simile alle Enterobacteriacee, invasivo, capace di formare enterotossina.

Incubazione e sintomi sono molto simili alla salmonellosi. Tra le complicazioni si ha l'appendicite. Esistono diversi sierotipi e solo alcuni sono riconosciuti patogeni (O3 e O9 in Europa).

Per la diagnosi di laboratorio si coltiva il campione di feci o di alimento in brodo di arricchimento, seguito da trattamento con KOH e da piastratura su terreno solido (CIN Agar). L'identificazione delle colonie sospette si fa con tests biochimici.

Tossinfezioni da *Vibrio cholerae*

È un bacillo gram-negativo, mobile, che sviluppa bene a pH alcalino (8,5-9) caratterizzato dall'antigene somatico O -1.

È simile biochimicamente al *Vibrio cholerae El Tor* (un altro biotipo) e si classifica in tre sottobiotipi (*Inaba*, *Ogawa* e *Hikojima*) agglutinabili da altrettanti sieri diagnostici.

Habitat sono le feci degli ammalati o dei portatori. Vie di contagio sono l'acqua e le verdure lavate con acque infette, come pure i molluschi provenienti da acque contaminate. Il *V.cholerae* entra dalla bocca, aderisce alla mucosa del tenue, forma un'enterotossina termolabile simile a quella della *Shigella* e dell'*E.coli*.

L'incubazione è di 2-5 giorni ed il quadro clinico è quello di diarrea acquosa che può portare a collasso letale. La malattia è endemica in India e Bangladesh, in Asia e Africa, rara in Europa.

La diagnosi avviene per coltivazione del germe in acqua peptonata alcalina a 37°C per 6-18 ore seguita da piastratura su terreno selettivo solido (TCBS) con isolamento delle colonie sospette su Kligler e conferma biochimica e sierologica (agglutinazione rapida con siero O - 1).

I ceppi che non agglutinano con siero O -1 e biochimicamente risultano *V.cholerae* vengono denominati NAG e ritenuti per ora saprofiti scarsamente patogeni.

Tossinfezioni da vibriani alofili

Hanno optimum di crescita sopra i 15°C e sono legati al consumo di prodotti della pesca mangiati crudi (Asia e Giappone in particolare). Provocano vomito e diarrea dopo incubazione di 2 - 48 ore.

I microrganismi responsabili sono principalmente : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio alginolyticus*.

La diagnosi sugli alimenti (pesce, molluschi) viene fatta con arricchimento a 37°C in acqua peptonata salata (al 3 %) per 18-24 ore seguito da piastratura su terreno selettivo solido (TCBS) e identificazione biochimica. Tutti i terreni impiegati devono contenere concentrazioni di NaCl superiori alla norma (terreni ipersalati = 3%).

Tossinfezioni da *Aeromonas* e *Plesiomonas*

Habitat di questi germi gram-negativi è l'acqua e le tossinfezioni sono soprattutto legate a prodotti ittici nei mesi caldi. *Aeromonas hydrophila* forma una tossina simile al colera e provoca diarrea, oltre a infezioni ospedaliere per contaminazione di ambienti

e apparecchiature. *Plesiomonas shigelloides* provoca gastroenteriti.

Tossinfezioni da *Campylobacter jejuni* e *coli*

È un bacillo gram-negativo curvo, microaerofilo (=richiede il 5-10% di CO₂ per sviluppare). Il suo habitat è l'intestino degli animali. Come nel caso delle Salmonelle raggiunge gli alimenti attraverso contaminazione delle carni o di altre materie prime per scarsa igiene. Può sopravvivere negli alimenti anche a temperatura di frigorifero, anche se non si moltiplica. Bastano poche cellule per provocare malattia (infiammazione dell'ileo e del colon).

Produce due tossine (citotossina ed enterotossina). Quest'ultima, come nel colera, si lega alle cellule della mucosa intestinale e attivando l'adenilciclasi provoca forti diarree anche ematiche dopo incubazione di 1-7 giorni. Si ha anche febbre alta, vomito, colica e passaggio nei linfonodi mesenterici con appendicite, adenite, meningite, infezioni delle vie urinarie. Anche il *C. coli* produce tossinfezioni.

Per la diagnosi di laboratorio si seminano campioni di feci o di alimento in terreno liquido di arricchimento (CEB) incubato a 37°C o 42°C per 48 ore e si coltiva quindi su piastre di terreni selettivi, che a seconda delle combinazioni di antibiotici usati prendono il nome dell'Autore (Skirrow, Butzler, Preston) con incubazione a 37°C per 72 ore in microaerofilia. Segue l'identificazione biochimica e sierologica.

Intossicazioni da *Clostridium botulinum*

È un bacillo gram-positivo anaerobio che forma spore ovali sub-terminali ed elabora tossine differenziabili sierologicamente nei tipi A - G.

Vive nel terreno, può essere proteolitico (odore di putrefazione nei cibi) e resiste come spora a 90°C per 5', a pH 4,5 e Aw 0,95. Si moltiplica a partire da 10°C.

Le spore germinano in anaerobiosi (come nelle conserve chiuse) o in condizioni di scarso ossigeno (interno di carni o in alimenti inquinati da germi che consumano l'ossigeno) formando tossina se la temperatura è adeguata (optimum a 30°C).

Gli alimenti spesso responsabili di casi di botulismo sono:

- conserve vegetali leggermente acide (pH >4,5) preparate in casa (fagioli, melanzane, peperoni) riscaldate a non oltre 100°C, contaminate da terra (spore) e conservate fuori dal frigorifero.
- salsicce casalinghe cotte (sanguinaccio, salsiccia di fegato) preparate con sangue e cotenne inquinate e non trattate sufficientemente con nitrito di sodio.
- alimenti sotto sale (prosciutto crudo) con diffusione proppa lenta del sale durante la salagione.

- pesci marinati o fermentati (con spore e scarsa o troppo lenta acidificazione).

Le tossine sono proteine inattivabili dall'ebollizione (che tuttavia a 70-80°C resistono fino a 30') capaci di bloccare l'acetilcolina nel sistema nervoso periferico impedendo la trasmissione degli impulsi.

L'incubazione è di 12-36 ore (raramente da 4 ore a 4 giorni). I sintomi sono nausea, vomito, disturbi gastroenterici, diplopia, fotofobia, essiccamento delle mucose, blocco della salivazione, paralisi respiratoria e polmonite.

La diagnosi è soprattutto clinica e in laboratorio si pratica la ricerca della tossina nel siero, feci, vomito del malato oppure nell'alimento attraverso tests biologici su topo o tests sierologici (ELISA). Non serve la ricerca del germe essendo il *Cl. botulinum* ubiquitario.

Intossicazioni da *Clostridium perfringens*

Si presenta come gram-positivo anaerobio che vive nelle feci dell'uomo (fino a 10.000 germi/gr), degli animali e nel terreno. Forma spore che germinano a temperatura ambiente o dopo riscaldamento moderato (=shock termico) come avviene nei cibi preparati, lasciati fuori dal frigorifero e poi riscaldati.

Le cellule vegetative nate dalle spore raggiungono l'intestino col cibo inquinato, si moltiplicano a livello di mucosa e formano nuove spore. Nella sporulazione si producono enterotossine di natura proteica sierologicamente differenziate in A-D.

L'incubazione è di 8-20 ore con diarrea e dolori addominali.

La diagnosi consiste nella ricerca quantitativa del *Cl. perfringens* nelle feci o nell'alimento e risulta significativa se maggiore di 1 milione di germi/grammo. Si seminano diluizioni decimali del campione omogeneizzato su piastre di terreni selettivi come SFP o SPS da incubare a 37°C per 48 ore in anaerobiosi. L'identificazione del germe avviene per via biochimica.

Tossinfezioni da *Bacillus cereus*

È un germe aerobio a forma di grosso bastoncino gram-positivo che forma spore molto resistenti al calore. Sviluppa tra 10 e 48°C con optimum intorno a 30°C.

Il suo habitat è il terreno e gli alimenti più frequentemente inquinati, causa di tossinfezioni, sono i vegetali ricchi di amido (come il riso, le verdure, le spezie) specialmente se si tratta di piatti già cotti e lasciati raffreddare a temperatura ambiente, sottoposti ad un secondo riscaldamento che facilita la sporulazione.

Per avere intossicazione occorrono 10^5 - 10^6 germi per grammo di alimento.

L'incubazione è di 8-16 ore e la sintomatologia è di due tipi, con diarrea e con vomito (a seconda della presenza delle tossine diarroica oppure emetica). In quest'ultimo caso l'incubazione è brevissima (anche ½ ora e fino a 6 ore).

La diagnosi prevede la ricerca quantitativa del *B. cereus* da feci o da alimento su terreno selettivo solido (Cereus Selective Agar) con incubazione delle piastre a 30°C per 24 ore. Per l'identificazione servono prove microscopiche e biochimiche adatte a differenziare il *B. cereus* da altre bacillacee affini, come *Bacillus anthracis*, *thuringiensis*, *megaterium*, *mycoides*.

Intossicazioni da *Staphylococcus aureus*

Si presenta come un cocco sferico gram-positivo, immobile, che cresce fra 6,5 e 46°C con optimum attorno a 37°C. In brodocoltura in laboratorio forma caratteristici ammassi a grappolo.

È un germe piogeno che dà infiammazioni locali non gravi (foruncoli e ascessi), ma che talvolta provoca infezioni post-operatorie e infezioni generalizzate. Produce esotossine di natura proteica classificate da A ad E sierologicamente, molto resistenti al calore (un'ora a 100°C). La massima produzione di tossina si ha intorno ai 37°C e a pH 6-7.

Lo stafilococco riesce a produrre tossina da 10°C fino a 45°C e con pH basso fino a 4,8 oppure Aw ridotta fino a 0,86.

Inquina gli alimenti partendo generalmente da mani sporche, dal naso, dalla saliva, da ferite e suppurazioni, raramente da latte mastitico.

Gli alimenti che si inquinano più facilmente sono quelli contenenti uova, creme, salse, ripieni, formaggio (essendo ricchi di proteine e zuccheri), oppure i pesci e gli insaccati (prosciutto cotto, insaccati misti) che hanno un alto contenuto d'acqua.

L'incubazione è di 1-6 ore ed i sintomi sono nausea, vomito, diarrea, febbre.

La diagnosi si avvale del conteggio dello *Staphylococcus aureus* nell'alimento (significativo se $>10^6$ per gr) su terreno selettivo come il Baird-Parker Agar, seguito da prove indirette di patogenicità (test della coagulasi con plasma di coniglio e della DNA-si e/o termonucleasi).

Si ricorda tuttavia che ha valore indiscutibile per la diagnosi solamente la dimostrazione della presenza di tossina preformata nel campione di alimento, effettuabile con test immunoenzimatici tipo ELISA o

Reverse Passive Latex Agglutination, direttamente su estratti del campione alimentare.

Infezioni da *Listeria monocytogenes*

Si tratta di un microrganismo largamente distribuito in natura (dall'Artico ai Tropici) isolato da acqua, liquami, suolo, vegetazione, feci animali. È un bastoncino gram-positivo, aerobio, mobile a 20-25°C, resistente a pH tra 4,8 e 9 e ad Aw sopra 0,93, inattivato dai comuni disinfettanti e da antibiotici quali ampicillina e tetraciclina.

L'incubazione della malattia varia da 1 a 4 settimane e può manifestarsi con aborto nella donna, meningite nel neonato e negli anziani, forme gravi e talora mortali nelle persone più debilitate o già ammalate.

Dal 1950 si è sospettato un collegamento con gli alimenti e da allora sono stati studiati con maggiore attenzione casi d'infezione veicolati da latte crudo, derivati del latte non pastorizzato (gelati, formaggi erborinati), vegetali e carni consumati crudi.

I focolai descritti sono relativamente pochi e colpiscono un numero basso di individui (inferiore a 1 per milione d'abitanti in Europa), ma spesso con forme gravi.

I metodi d'analisi di laboratorio sono di due tipi: con arricchimento a freddo per più settimane seguito da isolamento su piastre di terreni selettivi (metodo usato con successo su feci, organi e altro materiale patologico) e con arricchimento breve, incubando l'omogenato del campione in *Listeria* Enrichment Broth a 30°C per 48 ore e trapiantando su terreno selettivo tipo Oxford Agar o PALCAM.

Seguono in ogni caso i trapianti per le prove di identificazione biochimica per differenziare la *Listeria monocytogenes* da altri tipi di *Listeria* considerati scarsamente patogeni o addirittura non patogeni (come *L. innocua*). In numerosi paesi europei, le disposizioni di legge tollerano determinati livelli di contaminazione da *L. monocytogenes* negli alimenti. In Italia è tollerata la presenza di *L. monocytogenes* negli alimenti crudi destinati ad essere consumati previa cottura in quantità non superiore a 11/gr e non superiore a 110 germi/gr in 2 su 5 unità campionarie analizzate, mentre per gli alimenti da consumare crudi (latte, formaggi, salumi stagionati o cotti) viene prescritta l'assenza in 25 grammi.

Infezioni da *Brucelle*

Le Brucelle si presentano come cocco-bacilli gram-negativi immobili, aerobi o microaerofili. Sono patogeni per gli animali e hanno sede nel bovino (*Br. abortus*), negli ovi-caprini (*Br. melitensis*) e nel maiale (*Br. suis*).

Possono arrivare all'uomo attraverso latte non pastorizzato o formaggi prodotti con latte di stalla (pecorino, caprino). L'incubazione è di 1-3 settimane. L'infezione da *Br. melitensis* si presenta come una grave forma tifoide con febbre alta che persiste a lungo (febbre maltese), mentre la *Br. abortus* provoca attacchi febbrili di breve durata (febbre ondulante) che si ripetono, se non trattati, per mesi o per anni.

La diagnosi è sierologica nel paziente e batteriologica nell'alimento. Per il latte è usato il cosiddetto Ring Test, per gli altri prodotti viene seminato il terreno selettivo Brucella Agar, da incubare in microaerofilia a 37°C per 5 giorni.

L'isolamento in coltura è tuttavia molto difficile, essendo il germe esigente e facilmente sopraffatto dalla flora saprofitaria.

Intossicazioni alimentari provocate da tossine diverse

Si ricordano quelle provocate da **micotossine** (aflatossine e ocratossine prodotte da Aspergilli nelle arachidi e cereali, alcaloidi della segale cornuta prodotte da *Claviceps purpurea*, agente eziologico del cosiddetto "fuoco di S. Antonio" o ergotismo, patulina prodotta da Aspergilli e Penicilli nella frutta, zearalenone prodotto da *Fusarium* nei cereali).

Queste tossine prodotte da funghi o miceti (dette micotossine) sono pericolose perché resistono alla pastorizzazione e per distruggerle occorre l'autoclavatura a 120°C o l'estrazione con soda caustica, come avviene per la raffinazione degli oli alimentari da semi.

Le aflatossine possono provocare degenerazione epatica ed effetti teratogeni (= malformazioni e morte del feto) e cancerogeni.

La patulina può dare disturbi intestinali ed emorragie; l'ocratossina enteriti, necrosi, effetti teratogeni; lo zearalenone ha azione estrogena sugli animali e può provocare nell'uomo indebolimento del sistema emopoietico.

Altre sostanze ad azione tossica legate ai batteri (come *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*) sono le **ammine biogene**, cataboliti tossici prodotti per decarbossilazione degli aminoacidi.

I prodotti tossici sono principalmente l'istamina e la tirosina.

Nell'intossicazione da ammine biogene l'incubazione è molto breve (30'-1 ora) con cefalea, vomito, dolori addominali, disturbi circolatori, arrossamento della cute.

Spesso la causa è il deterioramento batterico dei cibi ricchi di aminoacidi (istidina nel tonno e negli sgombri) oppure di aminoacidi del formaggio e degli insaccati crudi stagionati a lungo.

La diagnosi (dosaggio delle micotossine e delle ammine biogene come istamina e tirosina) avviene esclusivamente con metodi chimici.

Le analisi effettuabili in laboratorio per la diagnosi di malattie trasmesse con gli alimenti sono riassunte nella seguente tabella 3:

Tabella 3. Analisi effettuabili in laboratorio per la diagnosi di malattie trasmesse con gli alimenti

Agente eziologico	Campioni clinici	Campioni alimentari
<i>S. aureus</i>	Conteggio nelle feci (poco significativo) Tossina nelle feci (idem)	Conteggio nell'alimento Tossina nell'alimento Tossina dal ceppo
<i>B. cereus</i>	Conteggio nelle feci	Conteggio nell'alimento Tossina dal ceppo
<i>E. coli enterotossici (ETEC)</i> o <i>enteroemorragici (EHEC)</i>	Isolamento dalle feci Tipizzazione ceppi	Conteggio nell'alimento Tossine dal ceppo Tipizzazione ceppi
<i>V. parahaemolyticus</i>		Ricerca qualitativa nell'alimento
<i>Cl. perfringens</i>	Conteggio nelle feci	Conteggio nell'alimento Tossina dal ceppo
<i>Cl. botulinum</i>	Tossina nelle feci, siero, vomito	Tossina nell'alimento
<i>Shigella</i>	Isolamento dalle feci	Ricerca nell'alimento Tossina dal ceppo
<i>V. cholerae</i>	Isolamento dalle feci	Ricerca nell'alimento Tossina dal ceppo
<i>C. jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Isolamento dalle feci	Ricerca nell'alimento
<i>L. monocytogenes</i>	Anticorpi nel siero	Conteggio nell'alimento
<i>Salmonella</i>	Isolamento dalle feci	Ricerca nell'alimento
<i>S. typhi</i>	Anticorpi nel siero	Ricerca nell'alimento
<i>Brucella</i>	Anticorpi nel siero	Ricerca nell'alimento Prova biologica
<i>M. tuberculosis</i>	Prova allergica	Ricerca nell'alimento Prova biologica

Deterioramento degli alimenti

Nel deterioramento gli alimenti perdono colore, aspetto, consistenza, profumo e sapore.

Il deterioramento può essere di natura enzimatica (chimica) e microbiologica.

I batteri contribuiscono in maniera determinante al deterioramento in funzione di altre condizioni : costituenti dell'alimento, pH, aW, potenziale di ossido-riduzione, temperatura.

a) in base ai costituenti (proteine, grassi, zuccheri)

I batteri (come *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Proteus*) demoliscono le proteine, specialmente se a basso peso molecolare, per decarbossilazione (con formazione di ammine biogene alteranti l'odore) e per deaminazione ossidativa (con formazione di ammoniaca ed acidi organici).

I miceti (funghi, lieviti) idrolizzano i grassi (trigliceridi) mediante lipasi con formazione di acidi (butirrico) con irrancidimento (sapore rancido e odori estranei).

Alcuni batteri (lattobacilli, *Erwinia*, *Leuconostoc*, *Clostridium butyricum*) demoliscono gli zuccheri con formazione di CO₂, etanolo, acido lattico e conseguente variazione del colore, dell'odore e della consistenza (demolizione della pectina nei vegetali e formazione del marciume molle).

b) in base al pH

Si trovano alimenti alcalini con pH >7 come l'albume d'uovo (pH 9,6), neutri a pH 6,5-7 (come il latte), debolmente acidi a pH 5,3-6,5 (come le carni, il pesce, il pane, la verdura), acidi a pH 3,7-4,5 (come pomodori, yogurt, maionese, frutta) e fortemente acidi a pH <3,7 (come i limoni a pH 2,2-2,4).

I batteri sopportano generalmente pH da 4 a 9. Fanno eccezione i batteri lattici (*Lactobacillus*), acetici (*Acetobacter*), i lieviti (*Saccharomyces*), i funghi (*Penicillium*, *Aspergillus*) che tollerano pH più bassi di 4 (fino a 1,6).

c) in base all' Aw

L'acqua viene legata da numerosi componenti dell'alimento (sale, zuccheri, proteine). Quest'acqua non è disponibile per lo sviluppo dei microrganismi. Aumentando la concentrazione di sostanze capaci di catturare l'acqua diminuisce la tensione di vapore d'acqua sopra l'alimento, che rappresenta l'acqua libera o aW utilizzabile dai batteri.

La misura dell'Aw viene espressa da un numero compreso tra 0 e 1 (= tensione di vapore dell'acqua pura).

Sottraendo acqua (essiccamento, affumicatura, aggiunta di sale, zucchero, albumina, grassi, lattosio, surgelamento) lo sviluppo dei batteri viene inibito.

Alcuni germi (come *Pseudomonas*) sono particolarmente sensibili all' Aw e sopravvivono solo negli alimenti più ricchi d'acqua, come carne, pesce, uova, altri (come *Halococcus*, *Staphylococcus*, muffe e lieviti) si adattano e vengono detti microrganismi xerotolleranti (oppure alotolleranti o osmotolleranti).

Il valore minimo di Aw per molti batteri è di 0,96, mentre per i lieviti 0,87 e per le muffe 0,80.

Gli alimenti con Aw inferiore a 0,95 vengono considerati facilmente alterabili (carni, uova, pesce), quelli tra 0,91 e 0,95 moderatamente alterabili (vi possono crescere micrococchi, stafilococchi, lieviti e muffe e comprendono wurstel, carni salmistrade), quelli sotto 0,90 praticamente inalterabili (salami stagionati, pesce secco salato, succhi di frutta concentrati, farina, riso, frutta secca, carne secca, latte e uova in polvere, patatine fritte).

d) in base al potenziale ossido-riduttivo

Ogni alimento ha un proprio potenziale ossido-riduttivo Eh influenzato dalla composizione chimica. Nella carne, nel formaggio, nelle conserve in scatola l'Eh si aggira su -150/-200 mV. Nella frutta e nella verdura, al contrario, l'Eh si aggira su +300/+400 mV.

I batteri aerobi e i funghi, esigendo Eh elevati, attaccano prevalentemente i vegetali.

I batteri anaerobi facoltativi o anaerobi che tollerano Eh bassi (fino a -300 mV) attaccano prevalentemente le carni.

e) in base alla temperatura

I batteri sono stati classificati, per temperatura ottimale di sviluppo, in gruppi :

PSICROFILI (*Aeromonas*, *Brochothrix*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Serratia*) 12-15 °C;

MESOFILI (*Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*) 30 - 40 °C;

TERMOFILI (*Bacillus*) 55 - 70 °C.

Alcuni germi riescono a sopravvivere e a riprodursi anche a temperature più basse, come *Pseudomonas* che possono svilupparsi fino a -7°C, mentre tra 0 e +5°C si riproducono *Listeria monocytogenes*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Yersinia enterocolitica*, *Micrococcus*.

Sopra i 70°C sopravvivono i germi termodurici (*Streptococcus* e *Clostridium*) che si trovano nel latte crudo e nei derivati del latte (formaggi).

DETERIORAMENTO DEI VEGETALI

Nella frutta si hanno putrefazioni da muffe (*Botrytis cinerea* = muffa grigia dell'uva; *Gleosporium album* = marciume ad occhio di pernice dei frutti con semi; *Monilia* = putrefazione delle prugne, pesche,

ciliege; *Penicillium* = marciume verde o azzurro degli agrumi; *Venturia* = ticchiolatura delle mele e delle pere; *Phytophthora* = peronospora delle fragole; *Aspergillus* = muffa nera dell'uva; *Rhizopus* = marciume delle fragole).

Nella verdura, che cresce vicina al suolo, si trovano normalmente streptococchi, clostridi (*Cl. botulinum*, *Cl. perfringens*), bacilli (*B.cereus*, lattobacilli) a cui si aggiungono, nella putrefazione, *Erwinia carotovora* (= marciume molle e marciume nero delle patate), *Xantomonas campestris* (= marciume nero del cavolo), *Phytophthora infestans* (= peronospora delle patate), *Fusarium solani* (= marciume secco delle patate).

ALTERAZIONI NEI FORMAGGI

Si possono avere rigonfiamenti precoci nei primi due giorni dalla produzione per insufficiente acidificazione e sviluppo di *Klebsiella aerogenes* o di *E. coli* oppure rigonfiamenti tardivi da spore di clostridi termodurici (*Cl. tyrobutyricum*) originate da insilati e sopravvissute alla pasteurizzazione del latte, con formazione di gas e di acido butirrico.

Alterazioni superficiali della crosta sono invece spesso causate da muffe.

DETERIORAMENTO DELLA CARNE

Essendo un terreno ideale per i germi, dopo la macellazione la carne deve essere trattata con precauzioni igieniche e rapido raffreddamento a cuore sotto i 4°C (entro 10-16 ore nei suini, 15-24 ore nei bovini). La conservazione dovrebbe avvenire da -1 fino a +2°C. Sono maggiormente sensibili alla proliferazione batterica le carni in pezzi, tritate, disossate meccanicamente.

Le alterazioni si producono inizialmente in superficie (l'interno del muscolo è di norma sterile) ad opera di gram-negativi come *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus* e di gram-positivi come *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* e successivamente in profondità per invasione di germi gram-positivi come *Cl. perfringens*, *Cl. histolyticum*, *Cl. sporogenes*, *Streptococcus*, *Bacillus* e in minore misura gram-negativi (*Proteus*).

Le carni di animali stressati prima della macellazione (scure, dure, secche = DFD), sono soggette ad alterazioni precoci dovute a batteri lattici, *Serratia*, *Brochothrix thermosphacta*.

Sulle carni congelate sfuse si possono produrre macchie bianche, scure o azzurre dovute a muffe (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Sporotrichum*).

DETERIORAMENTO DEI SALUMI

Negli insaccati crudi (freschi e stagionati) i germi maggiormente responsabili di alterazioni sono gli

enterobatteri (che danno putrefazione interna e sviluppo di gas), gli stafilococchi e i lattobacilli eterofermentanti, le muffe (che danno alterazioni superficiali del budello).

Nei prosciutti crudi le alterazioni possono derivare da moltiplicazione, in prossimità dell'osso, di Enterobatteri (*Proteus*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*) che provocano putrefazione e formazione di idrogeno solforato (se in concentrazione superiore a 10⁶ per grammo) e di clostridi.

DETERIORAMENTO DELLE UOVA

Può dipendere dal passaggio di germi (*Pseudomonas*, enterobatteri) dall'esterno del guscio all'interno dell'uovo, attraverso screpolature o microfessure originate dalla raccolta o durante il trasporto.

L'uso di conservare le uova a temperatura ambiente è inoltre alla base della possibile moltiplicazione batterica di eventuali Salmonelle all'interno.

DETERIORAMENTO DEI PRODOTTI ITTICI

L'alterazione del pesce è primariamente dovuta a *Shewanella putrefaciens* e *Pseudomonas*. Altri germi dannosi alla conservazione sono *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Bacillus* e *Micrococcus*.

I batteri demoliscono le proteine con formazione di ammoniaca, acido solfidrico e ammine dall'odore sgradevole (trimetilammina) già a partire da 10⁶ germi per grammo.

DETERIORAMENTO DELLE BEVANDE

Il caso più importante è l'alterazione dei succhi di frutta per sviluppo di lieviti appartenenti al genere *Saccharomyces* che sono in grado di far fermentare con sviluppo di gas le bevande a scarsa acidità.

Conservazione degli alimenti

Gli alimenti non trattati tenuti a circa +4°C nel frigorifero domestico hanno un tempo di conservazione limitato (carne trita e pesce 1 giorno, carni in genere, insalata, latte e panna 2-5 giorni, frutta 2-10 giorni, uova 3-4 settimane, semiconserve 6 settimane).

Un prolungamento della conservazione si ottiene con la cottura e successiva conservazione in frigorifero. Tuttavia per conservare a media e lunga distanza si usano procedimenti diversi :

- FISICI (pasteurizzazione, sterilizzazione, congelamento, essiccamento, radiazioni).
- CHIMICI (conservanti, salatura, zucchero, affumicatura, atmosfera modificata).
- BIOLOGICI (fermentazioni).

Effetto dei trattamenti fisici sui microrganismi

1. PASTEURIZZAZIONE

Avviene a 65°C per 30' o a 71-75°C per 5-10' (per il latte bastano 40 secondi).

Una speciale pasteurizzazione è il trattamento UHT del latte (2-4 secondi a 140-150°C). Vengono uccisi i germi patogeni (Brucelle, Micobatteri, Salmonelle, Stafilococchi, ecc), la maggior parte dei batteri, muffe e lieviti, escluse le spore dei microrganismi termofili.

Alla categoria dei pastorizzati appartengono anche le semiconserve, preparate riscaldando a 65-75°C o facendo bollire (marinatura con cottura). La validità di questi prodotti è limitata (esempio : semiconserve di carne 6 settimane a temperatura <5° C).

2. STERILIZZAZIONE

Viene fatta in autoclave sotto pressione a 115-135°C, per il latte a 110-115°C per 20-40 secondi. Possono sopravvivere alcune spore, che tuttavia, essendo in condizioni sub-letali, non si moltiplicano. Appartengono a questa categoria le conserve, definite "commercialmente sterili" che possono durare, a temperatura ambiente, fino a 4 anni.

Il raggiungimento della sterilità è favorito dal pH acido, mentre agiscono in senso sfavorevole l'Aw elevata e la presenza di sostanze protettive per i batteri (grassi, zuccheri, proteine).

Il deterioramento batteriologico delle conserve può dipendere da sterilizzazione insufficiente di materiale iniziale fortemente inquinato o da tenuta difettosa della scatola.

Si possono sviluppare bacilli (*B. stearothermophilus*) e clostridi (*Cl. pasteurianum*, *Cl. botulinum*).

3. CONGELAMENTO

Con il congelamento (-20°C) o con il surgelamento (-40°C) i batteri non vengono uccisi e sopravvivono i lattobacilli, i micrococchi, in misura minore *Pseudomonas* ed Enterobatteri, ancor meno *Cl. perfringens*.

4. ESSICAMENTO

Può avvenire all'aria, al sole, con la liofilizzazione. Viene praticato su frutta, verdura e, nel caso della liofilizzazione, su latte, estratti, minestre.

I microrganismi subiscono solo un danno sub-letale e dopo aggiunta di acqua i batteri possono riprendersi e provocare deterioramento dell'alimento o tossinfezioni.

5. RADIAZIONI

In Germania si trattano con i raggi ultravioletti acqua, frutta, verdura, formaggi in stagionatura. L'efficacia dei raggi UV è molto limitata dalla di-

stanza, dalla scarsa penetrabilità, dall'azione assorbente della polvere.

I raggi gamma vengono usati in Europa per inibire la germinazione di alcuni vegetali (come patate e cipolle). Tranne alcune eccezioni (Olanda, USA) non vengono per ora consentiti trattamenti con radiazioni sulle carni ed altri alimenti.

Con le radiazioni sono inattivati preferenzialmente i gram-negativi, mentre sono più difficilmente neutralizzati i gram-positivi, le spore, i lieviti e i funghi.

Effetto dei trattamenti chimici sui microrganismi

6. CONSERVANTI

Si usano additivi come l'acido sorbico (prodotti ittici, margarina, maionese, ravioli, pizze, gnocchi, succhi di frutta, pasticceria, pane), l'acido benzoico (formaggi, bibite analcoliche, semiconserve ittiche), l'anidride solforosa, usata anche come antiossidante e stabilizzante del colore (birra, frutta secca, marmellate, succhi di frutta, sottaceti, dolciumi), il nitrito di sodio e il nitrato di potassio (insaccati e carni conservate), la pimaricina (formaggi).

7. SALATURA

Nei formaggi può raggiungere l'1-3 %, nel burro lo 0,2-0,3 %, nella margarina il 19 %, nel pesce conservato il 20-24 %.

In seguito all'abbassamento dell'Aw vengono inibiti: *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Bacillus*, mentre possono resistere *Staphylococcus aureus*, micrococchi, batteri e lieviti alotolleranti.

8. AGGIUNTA DI ZUCCHERO

Si ottengono con il saccarosio gli stessi effetti della salagione. L'aggiunta di zucchero viene praticata nelle confetture di frutta (50-60%), nel marzapane (60 %), negli sciropi e gelatine di frutta (68 %).

Dopo apertura delle confezioni si possono avere contaminazioni crociate da muffe (*Penicillium* e *Aspergillus*) che sono la causa del deterioramento di questi prodotti.

9. AFFUMICATURA

Si ha un'azione batteriostatica o battericida per le sostanze fenoliche e gli acidi organici contenuti nel fumo, per l'abbassamento dell'Aw e per il calore.

Viene praticata su pesce (aringhe, salmone), prosciutto, salame, wurstel.

Non ha effetto sterilizzante. Sopravvivono i lattobacilli e le spore, oltre a germi di differenti specie (ad es. *Listeria monocytogenes*).

10. MODIFICAZIONI DELL' ATMOSFERA

Il trattamento sottovuoto esclude l'ossigeno, mentre il confezionamento in atmosfera modificata comporta la sostituzione dell'aria con miscele di gas (anidride carbonica, azoto, ossigeno).

Si usa per frutta, pane, carni fresche e altri prodotti. Questi trattamenti inibiscono la crescita dei germi aerobi (*Pseudomonas*, *Bacillus*, muffe), mentre possono resistere i batteri anaerobi facoltativi (lattobacilli, ecc).

Effetto dei trattamenti biologici sui microrganismi

Alimenti come i formaggi, i salumi, lo yogurt vengono prodotti mediante l'aggiunta intenzionale di microrganismi.

Mentre i vegetali vanno incontro a fermentazioni per la flora batterica delle piante, i prodotti di origine animale necessitano per ottenere gli stessi effetti dell'aggiunta di colture batteriche apposite dette "starter".

Tra i germi più importanti si ricordano i lattobacilli e le muffe per la produzione di formaggi, i lattobacilli, i pediococchi e *Leuconostoc* per le fermentazioni degli insaccati stagionati, i lattobacilli, gli streptococchi e i bifidobatteri per la preparazione dello yogurt, i lattobacilli e i lieviti per il pane.

Rientrano nelle modificazioni intenzionali degli alimenti mediante l'uso di microrganismi aggiunti anche la fermentazione alcolica e acetica.

L'attività benefica dei microrganismi aggiunti si manifesta con un'inibizione dei germi degradanti, degli eventuali patogeni e loro tossine (azione antagonista), con un miglioramento della digeribilità dell'alimento (azione demolitiva dei polimeri), con la produzione di aromi e di vitamine.

Il gruppo più interessante dal punto di vista tecnologico è quello dei batteri lattici.

I batteri lattici

Sono germi gram-positivi, immobili, catalasi-negativi, aerobi facoltativi che sviluppano meglio in atmosfera contenente il 5-10 % di CO₂.

Comprendono bastoncini del genere *Lactobacillus* e cocci dei generi *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*.

Il genere *Streptococcus* è diverso dagli streptococchi intestinali che vengono chiamati *Enterococcus*.

Affini ai lattobacilli sono considerati i Bifidobatteri (bastoncini gram-positivi anaerobi a forma di X o di Y).

I batteri lattici si trovano in natura sui vegetali e nell'intestino degli animali; hanno la caratteristica di demolire gli zuccheri con formazione di acido latti-

co (batteri omofermentanti) oppure, in aggiunta, anche acido acetico e alcool etilico (batteri eterofermentanti).

Tra i batteri lattici sono importanti nell'industria casearia i Lattobacilli *acidophilus*, *bulgaricus*, *helveticus*, *casei*, *delbrueckii*, gli Streptococchi *thermophilus* e *lactis*, il *Bifidobacterium bifidum* e nell'industria delle carni insaccate i Lattobacilli *sake*, *curvatus*, *plantarum*.

Altri microrganismi usati nelle fermentazioni sono i miceti (*Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus*) impiegati nei paesi asiatici (Indonesia, Cina, Giappone) per la produzione di numerosi alimenti a base di soia e di altri cereali (koji =riso fermentato; sufu=formaggio di soia).

I batteri negli alimenti e nelle acque

AVVERTENZA - Vengono riportati qui di seguito i più comuni contaminanti microbici presenti negli alimenti, le ricerche di laboratorio ed i criteri interpretativi per i valori trovati con le analisi.

Sono segnate le analisi contemplate dalla normativa vigente in Italia, con i relativi livelli di accettabilità. Diversamente, le ricerche e i dati presentati sono da intendersi solo come indicativi.

I metodi di analisi sono desumibili da bollettini ufficiali o dalla letteratura edita da organismi internazionalmente riconosciuti (ISO, FIL, ICMFS).

Attualmente si usa fornire inoltre indicazioni per il campionamento. Si tratta di piani di campionamento a due o tre classi, dove *n* corrisponde al numero di unità campionarie da analizzare.

I limiti di carica imposti per i vari alimenti sono nella fattispecie espressi con due valori, di cui il primo (m) corrisponde al livello di accettabilità ed il secondo (M) alla tolleranza ammessa entro una fascia compresa tra (m) ed (M).

Generalmente le unità campionarie da analizzare per le varie ricerche sono cinque (anche per le Salmonelle) e la tolleranza (salvo diversa indicazione) riguarda generalmente 2 unità campionarie su 5 analizzate (*c* = 2).

Questa procedura trova pratica attuazione nell'ambito delle analisi "normate", cioè contenute in disposizioni ufficiali con valore di legge.

LATTE

Nel latte crudo alla raccolta si trovano normalmente micrococchi, stafilococchi, corinebatteri, bacilli gram-negativi (*Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*), lattobacilli, bacilli, clostridi, lieviti e muffe.

Il latte può essere contaminato da germi patogeni,

tra cui *Mycobacterium tuberculosis e bovis*, *Brucella abortus e melitensis*, *Streptococcus agalactiae* (mastite bovina), *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*.

La qualità microbiologica del latte bovino crudo alla stalla (destinato alla produzione di latte pastorizzato o di prodotti a base di latte) prevede un limite di carica microbica a 30°C di 100.000 germi/ml.

Per il latte di bufala oppure ovi-caprino il limite di carica microbica a 30°C è fissato a 1.500.000 germi/ml.

Dopo trattamento termico, il latte pastorizzato non deve contenere più di 5 coliformi/ml (in un'unità campionaria su 5 analizzate) e 50.000 - 500.000 germi a 21°C dopo pre-incubazione del campione a 6°C per 5 giorni (tolleranza in 2 su 5 unità analizzate).

Il latte sterilizzato o il latte UHT non deve contenere più di 10 germi aerobi mesofili a 30°C per 0,1 ml (dopo pre-incubazione a 30°C per 15 giorni del campione).

Le analisi di carica batterica totale vengono allestite mediante semina di diluizioni del latte in piastre di terreno Nutrient agar + 1% di latte sterile, incubate a 30°C per 72 ore.

La conta dei coliformi viene allestita seminando 1 ml oppure 0,1 ml (nel caso di latte UHT) del campione in triplo in piastre di terreno VRBA da incubare a 30°C per 24 ore.

Vengono inoltre ricercati in 25 ml di latte la *Salmonella* e la *Listeria monocytogenes*.

DERIVATI DEL LATTE

Nella fabbricazione dei prodotti caseari vengono aggiunti al latte batteri e muffe che hanno la funzione di acidificare il latte (precipitando la caseina), produrre gas (batteri lattici etero-fermentanti), formare aroma (batteri lattici nello yogurt, muffe nei formaggi ad es. Roquefort e Camembert).

BURRO

La panna riscaldata viene inoculata con una miscela acidificante di *Str. cremoris*, *Str. lactis*, *Leuconostoc cremoris*.

Il burro non deve contenere più di 5 - 10 coliformi/gr (tolleranza in 2 unità campionarie su 5 analizzate), non deve contenere *Salmonella* in 25 gr e *L. monocytogenes* in 1 gr.

YOGURT

Il latte esente da residui di antibiotici viene inoculato con *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, eventualmente con *Bifidobacterium bifidum* e incubato a 45°C per 3 ore.

Lo yogurt non deve contenere meno di 5 milioni di batteri lattici per ml e non più di 10 coliformi/ml.

Il conteggio dei lattobacilli e dei lattococchi viene effettuato con la semina di due terreni in piastra: MRS agar a 37°C + 10 % di CO₂ durante 72 ore per i bacilli e M-17 agar a 44°C per i cocchi, sommando i risultati parziali ottenuti.

KEFIR

Vengono aggiunti al latte dei "grani" contenenti lieviti, lattobacilli e streptococchi, incubando per 10-24 ore a 20-22°C.

FORMAGGI

Nella produzione di caseificio il latte crudo viene purificato, portato al tenore di grasso desiderato, riscaldato e addizionato di colture starter (innesto) formate da lattobacilli, streptococchi, *Leuconostoc* che acidificando provocano la coagulazione, altri batteri (*Propionibacterium*, *Brevibacterium*) o muffe (*Penicillium*, *Mucor*) che metabolizzando lattosio, grassi e proteine sviluppano l'aroma tipico. La massa coagulata (cagliata) viene separata dal siero di latte e lavorata (formatura, pressatura, salatura, maturazione).

I formaggi non devono contenere *Salmonella* in 25 gr e *Listeria monocytogenes* (in 25 gr nei formaggi a pasta molle e in 1 gr in quelli a pasta dura).

Esistono dei criteri analitici per valutare la presenza di germi testimoni di carenza d'igiene: nei formaggi a pasta molle preparati con latte pastorizzato sono ammessi 10.000 - 100.000 coliformi/gr, 100 - 1.000 *Escherichia coli* e 100 - 1.000 *S. aureus*/gr (tolleranza in due unità campionarie su 5 analizzate).

La quantificazione dell'*E. coli* può essere effettuata in laboratorio ricorrendo al metodo MPN (= Most Probable Number) in brodo bile verde brillante o alla semina di diluizioni decimali in piastre di terreni selettivi che sfruttano l'azione enzimatica dell'*E. coli* sui beta-glucuronidi. In ogni caso è necessaria la conferma biochimica dei ceppi sospetti isolati.

La ricerca dello *S. aureus* viene allestita col metodo tradizionale della conta su Baird-Parker Agar incubato a 37°C per 48 ore e conferma con prove biochimiche ed enzimatiche dei ceppi isolati.

CARNI

In vivo il pH del muscolo è pressochè neutro (7,2) e dopo la macellazione (per azione enzimatica sul glicogeno trasformato in acido lattico) scende a 5,3-5,8.

La frollatura delle carni in frigorifero a -1/+2°C si completa in 2-4 giorni per la carne suina e in 10-14 giorni per la carne bovina.

In questo periodo diminuiscono i germi gram-negativi, sostituiti da micrococchi, lattobacilli e *Brochothrix thermosphacta* (germi microaerofili).

La stessa evoluzione della flora batterica si manifesta, seppure ritardata, nella carne posta sotto vuoto o in atmosfera modificata.

La carne trita, presentando una superficie esposta maggiore, va incontro ad aumento rapidissimo della carica microbica, per cui la sua durata è limitata a 1 giorno in frigorifero a temperatura tra 0 e +2°C.

La carica microbica totale della carne può arrivare fino a 10⁶ germi/gr senza apprezzabili variazioni organolettiche. Si manifesta la comparsa dell'odore sgradevole in presenza di CBT superiore a 10⁷ germi/gr, mentre con 10⁸ germi/gr si nota la formazione di mucillagine superficiale.

Le carni trite sono regolamentate come segue : carica batterica totale 500.000 - 5.000.000 germi/gr, *E. coli* 50 - 500, *S. aureus* 100 - 1000 (tolleranza in 2 unità campionarie su 5 analizzate), *Salmonella* assente in 10 gr.

Nelle preparazioni di carne (hamburger, spiedini, ecc) sono ammessi, invece, 500 -5000 *E. coli* e *S. aureus*/gr (tolleranza in 2 unità campionarie su 5 esaminate), *Salmonella* assente in 1 gr.

La carica batterica totale (CBT) viene allestita in laboratorio seminando diluizioni decimali del campione in doppio su piastre di Plate Count Agar da incubare a 37°C per 48 ore.

La conta dei germi anaerobi solfito-riduttori viene allestita su piastre di terreno selettivo (SFP agar) previa pasteurizzazione dell' omogenato del campione a 80°C per 10', con incubazione in anaerobiosi a 37°C per 48 ore.

SALUMI

La conservazione prolungata dei prodotti genericamente chiamati salumi o insaccati viene ottenuta con la salatura (sodio cloruro 3%, nitrato, nitrito di sodio), l'aggiunta di droghe, la riduzione dell'Aw nella stagionatura, le modificazioni della flora microbica nel corso della maturazione della carne con abbassamento del pH (eventualmente favorito da aggiunta di zucchero), la cottura o l'affumicamento.

I salumi vengono classificati in freschi (salsicce, cottechini), stagionati (prosciutto crudo, salame, speck) e cotti (wurstel, mortadella).

Nella preparazione dei salami stagionati vengono impiegati starter microbici (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*) oltre a lieviti per la formazione di aromi particolari e muffe (*Penicillium nalgiovense*) per la formazione dello strato superficiale bianco.

I germi aggiunti hanno la capacità di favorire la conservazione (per antagonismo con la flora originale della carne), creare l'aroma e migliorare il colore.

In particolare, i lattobacilli e i micrococchi si moltiplicano rapidamente nell'impasto di carne per la produzione dei salami e sostituiscono le

Enterobacteriaceae durante le 4-8 settimane di stagionatura a condizioni di temperatura decrescente (20-18-13°C) e umidità appropriata (90-85-80%). L'aggiunta di nitrati impedisce la moltiplicazione del *Cl. botulinum*.

Al termine della stagionatura questi prodotti possono presentare una Aw di 0,90-0,80 ed un pH di 5,7 - 5,9. Nei prosciutti crudi (ad eccezione del prosciutto di Parma e di S.Daniele) vengono impiegate salamoie contenenti sodio cloruro al 20%, nitrati, nitriti, acido ascorbico, polifosfati, zucchero. La flora microbica durante tali trattamenti (che possono durare da pochi giorni fino a 2 mesi a temperatura <5°C) è composta da lattobacilli, micrococchi, vibroni alofili, lieviti, *Enterococcus faecium*, alcuni gram-negativi.

Dopo una fase di asciugatura (che può durare 1 mese), subentra la fase di stagionatura (della durata da 9 mesi a 2 anni), con il raggiungimento di un'Aw ridotta a 0,96.

Nel prosciutto cotto il trattamento termico raggiunge circa 68°C (seguito da rapido raffreddamento a -1°C); possono sopravvivere batteri gram-negativi e streptococchi.

Nella mortadella (preparata con carne suina, bovina, polvere di latte, sale, nitrato, nitrito, spezie, fosfati) il trattamento termico raggiunge 78°C per 16-18 ore e l'Aw finale è di 0,95-0,94. Possono sopravvivere al centro della massa lattobacilli, streptococchi fecali, bacilli gram-positivi e alcuni germi gram-negativi.

UOVA ED OVOPRODOTTI

Le uova possono essere contaminate sul guscio da Salmonelle, mentre internamente solo in caso di trasmissione verticale dall'ovaio possono contenere *S.gallinarum-pullorum*, *S.enteritidis* e poche altre Salmonelle (tuttavia in numero esiguo e in proporzione di 1 : 15.000 uova durante la deposizione in allevamenti infetti).

Il problema delle tossinfezioni da Salmonella con le uova è legato soprattutto al fatto che le uova non vengono conservate refrigerate e che prodotti derivati possono contenere un elevato numero di Salmonelle (creme crude, salse, maionese, tiramisù) in seguito a mancato rispetto di buone pratiche di preparazione e di conservazione.

Gli ovoprodotti (misto d'uovo, tuorlo, albume) possono aumentare il rischio di contaminazione da Salmonelle provenienti dalla sgusciatura se non sono stati sottoposti a pasteurizzazione (65°C per 2,5-3 minuti) e successiva conservazione in frigorifero.

Il controllo preventivo delle tossinfezioni da uova inquinate è basato sul controllo veterinario degli allevamenti di ovaiole, integrato da esami di laboratorio sugli animali morti, sulle feci e sulle uova.

La ricerca delle Salmonelle nelle uova da consumo rientra nei piani di controllo ufficiali contro le salmonellosi.

In laboratorio la ricerca delle Salmonelle nelle uova viene effettuata separatamente sul guscio e sul tuorlo (in 50 gr) di campioni costituiti da 10 uova attraverso semina in brodo di pre-arricchimento (acqua peptonata tamponata) seguito da trapianto in terreni di arricchimento (brodo tetratoato e Rappaport incubati a 43 °C) con isolamento su piastre di Agar verde brillante ed Hektoen.

Lo stato igienico degli ovoprodotti prevede analisi riguardanti la carica batterica totale (<100.000/ml), enterobatteri (<100/ml), *S. aureus* (assente in 1 ml), *Salmonella* (assente in 25 ml).

La ricerca degli enterobatteri viene effettuata seminando diluizioni del campione su piastre di terreno VRBG (contenente glucosio) da incubare a 37°C per 24 ore con successiva conferma biochimica delle colonie sospette contaminate.

PRODOTTI ITTICI

Il pesce è soggetto ad una rapida moltiplicazione batterica costituita principalmente da gram-negativi e *Pseudomonas* che, oltre alla degradazione, può comportare la produzione di sostanze tossiche (istamina) soprattutto nei pesci ricchi di istidina (sgombri, tonno).

In alcuni paesi (come il Giappone) il consumo di pesce crudo porta il rischio di tossinfezioni da *Vibrio parahaemolyticus*.

Nei crostacei (gamberi, granchi, aragoste) e nei molluschi (cozze, ostriche, seppie, calamari) possono essere presenti Salmonelle, Shigelle, *Vibrio cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus*.

Il controllo igienico del pesce prevede in laboratorio la determinazione della carica batterica totale e dell'istamina (con metodi chimici). Nei crostacei e nei molluschi è indicata la ricerca dei patogeni (*Salmonella*, *Vibrio*).

Per i molluschi eduli lamellibranchi sono previsti limiti microbici relativi a *E. coli* (<2,3/gr di polpa e acqua) oppure coliformi fecali (<3/gr di polpa e acqua), *Salmonella* (assente in 25 gr di polpa).

La ricerca dei coliformi fecali può essere effettuata con metodo MPN in terreno liquido (brodo lattosato a 37°C per 48 ore seguito da trapianto in brodo bile verde brillante da incubare a 37°C per 48 ore e verificare ulteriormente per lo sviluppo in acqua triptonata a 44°C, oppure con i terreni in piastra per i coliformi (VRBA) da incubare a 44°C per 24 ore.

GELATI

Possono essere inquinati per contaminazione secondaria (mani, saliva, ecc) da parte del personale che li manipola con *Salmonella* e *S. aureus*.

La normativa prevede nel controllo microbiologico limiti relativi alla carica batterica totale a 30°C (100.000 - 500.000/gr), ai coliformi a 30° C e *S. aureus* (10-100/gr) con tolleranza in 2 unità campionarie su 5 analizzate, l'assenza di *Salmonella* in 25 gr e di *L. monocytogenes* in 1 gr.

PASTE ALIMENTARI

I limiti indicati per grammo sono :

- per le paste all' uovo industriali secche : CBT a 32°C 10.000 - 1.000.000, *S. aureus* 100 - 1.000 (tolleranza in 2 unità su 5 analizzate), *Salmonella* assente in 25 gr.

- per le paste all' uovo artigianali fresche non confezionate : CBT a 32° C 100.000 - 1.000.000, *S. aureus* e coliformi 1.000 - 10.000 (tolleranza in 2 unità su 5 analizzate), *Salmonella* assente in 25 gr.

- per le paste farcite industriali fresche confezionate : CBT a 32° C 100.000 - 1.000.000, *S. aureus* 100 - 500, *Cl.perfringens* 100 - 1.000 (tolleranza in 1 unità su 5 analizzate), assenza di *Salmonella* in 25 gr.

- per le paste farcite artigianali fresche non confezionate : CBT a 32° C 100.000 - 1.000.000, *S. aureus* 1.000 - 10.000 (tolleranza in 2 unità su 5 analizzate), *Salmonella* assente in 25 gr.

- per le paste farcite precotte surgelate : CBT a 32° C 100.000 - 300.000 (tolleranza in 2 unità su 5 analizzate), *E. coli* assente in 1 gr, *S. aureus* <100/gr, *Cl. perfringens* <30/gr, *Salmonella* assente in 25 gr.

PRODOTTI DI GASTRONOMIA

Possono contenere svariati microrganismi, anche se la flora batterica predominante rimane quella lattica. Si consiglia la ricerca quantitativa di coliformi, stafilococchi coagulasi+, clostridi solfito-riduttori, *Bacillus cereus*, miceti e qualitativa di *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*.

Per i piatti precucinati i riferimenti suggeriti per grammo sono i seguenti : carica batterica totale <300.000, coliformi <1.000, *E.coli* <10 (=assente in 0,1 gr), clostridi solfito-riduttori <30, *S. aureus* <100 (=assente in 0,01 gr), *Salmonella* assente in 25 gr.

SEMI - CONSERVE

Le ricerche più indicate sono la carica batterica totale (limite consigliato = 100.000/gr, le *Enterobacteriaceae* e lo *S. aureus* (10/gr), le muffe (100/gr).

CONSERVE

Un criterio di valutazione per questa categoria di prodotti particolarmente valido è contenuto nella legislazione svizzera, che prevede l'analisi su un minimo di sei confezioni, per stabilire la cosiddetta "sterilità commerciale".

Su tre scatole viene fatta una determinazione immediata della CBT aerobia mesofila, della CBT anaero-

bia mesofila, del contenuto di spore aerobiche e di spore anaerobiche.

Altre tre scatole vengono incubate a 37° C per 14 giorni (se con pH <4,5) o per 21 giorni (se con pH >4,5).

Al termine dell' incubazione vengono rifatte le determinazioni di cui sopra.

Dal confronto dei risultati prima e dopo l' incubazione delle scatole si ha esito sfavorevole qualora uno dei parametri dopo incubazione sia 100 volte superiore al corrispettivo misurato prima dell' incubazione.

VEGETALI

Per legumi, ortaggi, radici e tuberi le ricerche suggerite riguardano : *E.coli* (numerazione), miceti (numerazione), *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*.

PRODOTTI DI PASTICCERIA

Sono interessati i prodotti di pasticceria deperibili. Le analisi consigliate sono : CBT mesofila e psicrofila, conteggio di coliformi, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, miceti e la ricerca di *Salmonella*.

ALIMENTI PER LA PRIMA INFANZIA

Sono considerate adatte le numerazioni di coliformi, *S. aureus*, clostridi solfito-riduttori, miceti e la ricerca di *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*.

Per il latte in polvere per la prima infanzia la normativa prevede i seguenti limiti batteriologici su 5 unità campionarie : CBT < 10⁴ per gr, coliformi e *S. aureus* assenti in 1 gr, *Salmonella* assente in 25 gr (ricerca su 10 unità campionarie).

DIETETICI

Si raccomanda la quantificazione di *E. coli*, *S. aureus*, clostridi solfito-riduttori, miceti e la ricerca della *Salmonella*.

BEVANDE

Relativamente ai succhi e nettari di frutta non sterilizzati si raccomanda la determinazione quantitativa di: CBT mesofila, *E. coli*, miceti.

Il controllo microbiologico dell'acqua

ACQUA POTABILE

I parametri microbiologici da rispettare sono : carica batterica totale <10 germi/ml con incubazione delle piastre a 37°C per 48 ore e <100 germi/ml con incubazione a 22°C per 72 ore; coliformi, coliformi fecali, streptococchi fecali, spore di anaerobi solfito-riduttori assenti in 100 ml di acqua.

Le determinazioni vengono effettuate in laboratorio con il metodo tradizionale della semina in profondità di 1 ml del campione su piastre di terreno PCA

per la conta microbica totale, mentre le successive tre determinazioni vengono fatte con il metodo della filtrazione su membrana e coltivazione della stessa su appositi terreni solidi in piastra (M-Endo agar per i coliformi, FC-agar per i coliformi fecali, KF Streptococcus agar per gli streptococchi fecali).

Per la conta delle spore degli anaerobi solfito-riduttori, dopo pasteurizzazione del campione a 80°C per 10 minuti, si seminano con aliquote da 10 ml ciascuna 10 provette con terreno SPS fuso, da far solidificare a incubare a 37°C per 24 ore con overlay.

ACQUE MINERALI

Si richiede l'assenza in 250 ml di: *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, Clostridi solfito-riduttori; in 1000 ml di *Salmonella*, esaminando 3 unità campionarie per ogni lotto. Si richiede inoltre un contenuto di *Aeromonas* inferiore a 10 per 100 ml.

La determinazione di *Pseudomonas aeruginosa* richiede la filtrazione dell' acqua su membrana e l' uso di appropriati terreni selettivi antibiotati, sul tipo di Pseudomonas Agar o di Cetrimide Agar, con incubazione a 42° C per 48 ore.

La ricerca dell' *Aeromonas* è analoga, ma avviene su Aeromonas Agar a 30 °C per 24 ore.

Igiene nella produzione degli alimenti

Come per ogni prodotto, si esige anche per un alimento la buona qualità, che si esprime attraverso soddisfacenti caratteristiche organolettiche (colore, odore, sapore) e assenza di sostanze pericolose (chimiche e biologiche).

Un alimento per essere considerato di buona qualità microbiologica deve contenere un numero ridotto di microrganismi ed essere esente da germi patogeni e da tossine.

La garanzia della buona qualità microbiologica non può derivare dal controllo dei prodotti finiti (impossibile per sproporzione tra campioni esaminabili e quantità di alimenti prodotti e per la durata degli accertamenti analitici).

La qualità microbiologica migliora solo attraverso norme igieniche preventive da applicare nella programmazione della produzione (industrialmente intesa, data la prevalente concentrazione delle preparazioni alimentari non più familiari o artigianali) e norme igieniche da applicare nel corso della produzione.

In sintesi, nella programmazione della produzione sono importanti:

1- la costruzione dei locali (pavimenti e pareti lavabili, porte e finestre a tenuta, illuminazione suffi-

- ciente, impianto di condizionamento dell'aria).
- 2- l'uso di acqua potabile.
 - 3- la corretta eliminazione delle acque di scarico e dei rifiuti di lavorazione.
 - 4- la possibilità di smontare e pulire internamente le macchine.
 - 5- la separazione delle zone di lavorazione in zona sporca (lavaggio della frutta e verdura, macellazione, scongelamento della carne) e in zona pulita (cottura, porzionamento, confezione).

Nel corso della produzione sono importanti :

- 1- l'igiene personale (allontanamento dal trattamento diretto degli alimenti delle persone con malattie contagiose come affezioni gastro-intestinali, infiammazioni del cavo naso-faringeo e malattie della cute ; igiene delle mani ; uso di specifici indumenti protettivi da lavoro, come camice, copricapo, guanti e mascherina dove necessario ; visita sanitaria e libretto sanitario ; istruzione del personale).
- 2- controllo delle materie prime (controlli immediati come quelli organolettici, del pH, Aw, temperatura).
- 3- controlli sull'efficienza della produzione. Si stabiliscono sulla base di prove preliminari i livelli massimi di contaminazione microbica tollerabili in alcuni punti critici del processo produttivo (ad esempio una superficie di lavoro che viene a contatto con l'alimento, l'acqua di scarico, l'aria, ecc) e si prelevano ad intervalli regolari dei campioni. La valutazione dei risultati delle analisi permette di rilevare deviazioni dal comportamento standard e di orientare verso provvedimenti correttivi. Questa procedura viene chiamata HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point).
- 4- pulizia e disinfezione giornaliera alla fine del ciclo di lavorazione (pulitura preliminare con acqua calda a circa 50°C, distribuzione a caldo di soluzioni detergenti schiumogene, lavaggio con acqua sotto pressione, applicazione di un disinfettante efficace, risciaquo).
- 5- lotta alle mosche e ai roditori.

I controlli microbiologici che comportano analisi di laboratorio sulle materie prime, sui prodotti finiti, sull'ambiente di lavoro in generale (acque, aria, superfici, attrezzature, mani, ecc) utilizzano tests per la presenza/assenza di microrganismi patogeni (ad esempio si richiede l'assenza di *Salmonella* in 25 grammi) oppure tests di valutazione del numero di microrganismi deterioranti (carica batterica totale, conteggio dei coliformi, *E. coli*, *S. aureus*, streptococchi fecali, clostridi solfito-riduttori, miceti, ecc) espressi come numero di unità di batteri formanti colonia (U.F.C.) per grammo o ml o cmq.

Sono particolarmente interessanti i sistemi di rilevazione superficiale delle cariche microbiche (in particolare della CBT dopo lavaggio e sanificazione) mediante l'uso di tamponi superficiali e di piastre a contatto oppure la valutazione del grado di inquinamento batterico dell'aria confinata mediante apparecchi di filtrazione.

Norme da osservare dopo la produzione

Riguardano tutti gli accorgimenti atti a garantire le migliori condizioni di immagazzinaggio, conservazione, distribuzione dei prodotti alimentari con particolare riguardo ai cibi che richiedono il mantenimento della cosiddetta "catena del freddo" e che sono attualmente la maggioranza (refrigerati, congelati, surgelati).

L'osservanza delle norme igieniche di approntamento degli alimenti avrebbe scarsi risultati se non venisse corredata da informazioni per il consumatore. Si intendono come "informazioni per il consumatore" tutte le indicazioni che mettono in guardia l'utilizzatore finale dell'alimento dai rischi sanitari che corre se non applica gli accorgimenti che la scienza e l'esperienza insegnano. Sarebbe utile, ad esempio, raccomandare le seguenti semplici precauzioni che sfruttano, nell'ordine, il freddo, la cottura, la pratica igienica:

- non tenere al caldo i cibi nel trasporto.
- usare il più possibile il congelamento per conservare gli alimenti.
- controllare spesso la temperatura del frigorifero domestico (non deve superare +7°C).
- riporre in frigorifero uova, latte, formaggi, acqua minerale e bevande, prodotti pastorizzati, dolci e desserts, conserve e semiconserve già aperte.
- conservare le pietanze già cotte in frigorifero, chiuse nello stesso recipiente di cottura, evitando successive manipolazioni.
- scongelare il più velocemente possibile i cibi, direttamente in forno o in pentola.
- cuocere completamente fino al centro carni (specie hamburger), uova, pesce.
- non consumare crudi molluschi e insaccati freschi.
- ribollire cibi iniziati da conservare in frigo.
- non somministrare crudi alimenti facilmente inquinabili (latte, uova, creme, ecc) a bambini, anziani, malati e convalescenti.
- non manipolare sullo stesso tavolo o con gli stessi arnesi da cucina prodotti crudi, potenzialmente inquinati (carne, pollame) assieme a cibi non soggetti a cottura (verdure, dolci, gelati).
- lavarsi sempre le mani tra un'operazione e l'altra in cucina.

L'insieme delle informazioni costituisce la cosiddetta "educazione del consumatore".

Bibliografia

- Balows A. e Coll. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed., ASM, Washington, USA, 1991.
- B.U.R.L. *Bollettino Ufficiale Regione Lombardia*, suppl. straordinario al n° 10 del 07.03.97.
- Carter G. R. e Coll. *Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology and Mycology*, 5th ed., Academic Press, San Diego, CA, USA, 1990.
- De Felip G. *Igiene e Microbiologia alimentare*, SEF, Milano, 1991.
- FDA Food and Drug Administration, *Bacteriological Analytical Manual*, 8th ed., AOAC, Gathersburg, USA, 1995.
- ICMFS *Microrganisms in Foods 1 - 2*. 2nd edition, Toronto Univ. Press, Toronto, Canada, 1978.
- Jay M. *Modern Food Microbiology*, Van Nostrand, New York, USA, 1970.
- Kramer J. Cantoni C. *Alimenti - Microbiologia e igiene*, OEMF, Milano, 1990.
- Murray P. R. e Coll. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed., ASM, Washington, USA, 1995.
- Reed G. H. *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, 14, 16-17, 87, 161-162; 210-211, 268-269, 329-330, 482-483, 536, 591, 1994.
- Shapton D. A. e Coll. *Safe processing of Foods*, Butterworth-Heinemann, Oxford, England, 1991.
- Sharf J.M. *Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods*, APHA, New York, USA, 1966.
- Tiecco G. *Microbiologia degli alimenti di origine animale*, Edagricole, Bologna, 1987.
- Vanderzant D. A. e Coll. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, APHA, New York, USA, 1992.