

Latte in polvere ricostituito: studio delle pratiche di preparazione per migliorarne la sicurezza nei confronti di *Salmonella* spp. e *Cronobacter* spp.

Parole chiave: Liofilizzazione, Inattivazione termica, Latte

Razionale del Progetto. Background: la contaminazione degli alimenti caratterizzati da ridotta attività dell'acqua (ad esempio latte in polvere, cioccolato, burro di arachidi) con *Salmonella* spp, *Listeria* spp. *Cronobacter sakazakii* etc. rappresenta un problema noto; tali patogeni, infatti, pur non essendo in grado di crescere e moltiplicarsi in queste matrici alimentari, possono comunque sopravvivere per lunghi periodi di tempo, rappresentando così un rischio significativo per il consumatore (Lian et al., 2015). *Salmonella* spp. e *Cronobacter sakazakii* destano grande preoccupazione nell'industria degli alimenti per l'infanzia, proprio perché l'ingestione di alimenti con bassi livelli di contaminazione (10-100 CFU/ml) nei bambini di età inferiore ad un anno sono in grado di causare severe patologie (Lang et al., 2018). Il recente focolaio epidemico di salmonellosi in Francia, Spagna e Grecia causato dal consumo di latte in polvere contaminato, evidenzia la necessità di migliorare in ogni caso la sicurezza di questi prodotti e di fornire maggiori informazioni sul loro corretto utilizzo. Linee guida internazionali, come quelle stilate dal comitato ESPGHAN sulla nutrizione nel 2004 (Agostoni et al., 2004), sono state sviluppate proprio per ridurre i rischi associati alla presenza sia di *Salmonella* spp. che di *C. sakazakii* in latte in polvere evidenziando il ruolo fondamentale delle buone pratiche igieniche nella preparazione, conservazione, trasporto e sicurezza d'uso del latte in polvere. Tuttavia, il recente focolaio, e studi di letteratura (Losio et al., 2018) dimostrano che, il rispetto di tali pratiche potrebbero essere non sufficiente ad eliminare eventuali patogeni presenti nel latte in polvere. Obiettivi: lo scopo del progetto è di valutare l'impatto della ricostituzione domestica del latte in polvere sulla sopravvivenza di *Salmonella* spp. e *C. sakazakii*, utilizzando campioni sperimentalmente contaminati. Saranno quindi eseguiti test per osservare la termoresistenza di questi patogeni dopo il loro adattamento a condizioni di crescita sfavorevoli (es. matrici con bassi valori di acqua libera) al fine di simulare il loro adattamento in prodotti disidratati come il latte in polvere.

Risultati raggiunti. Selezione serovars *Salmonella* spp.: in accordo con il report EFSA and ECDC (2018), i 3 serovar maggiormente implicati in casi umani sono *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Typhimurium* variante monofasica. Selezione pool di ceppi con maggiore termoresistenza: un totale di 8 ceppi di *Salmonella* spp. sono stati testati al fine di valutarne la termoresistenza a 55°C. Lo studio della variabilità tra i ceppi ha mostrato un ampio range nelle velocità di inattivazione (espresse come K_{max}) da $0.07 \pm 0.01 \text{ m}^{-1}$ per il ceppo NCTC 6307 a $0.19 \pm 0.09 \text{ m}^{-1}$ per ATCC 6994 con conseguenti D_{value} rispettivamente di 13.82 ± 5.88 e 31.9 ± 4.48 minuti (Caproli et al., 2021). Prove di liofilizzazione: allo scopo di standardizzare un protocollo operativo per la produzione di un inoculo solido (liofilizzato) con il quale contaminare il latte in polvere, prove di recupero di *Salmonella* spp. sono state eseguite con latte UHT e il titolo pre- liofilizzazione (inoculo liquido), post- liofilizzazione (inoculo liofilizzato) e post adattamento (14 giorni a temperatura ambiente) del liofilizzato (inoculo liofilizzato adattato) sono state eseguite per valutare il titolo iniziale: la concentrazione

di *Salmonella* spp. è risultata essere pari a 10.07 ± 0.63 Log UFC/g, 9.28 ± 0.67 Log UFC/g e 8.38 ± 0.25 Log UFC/g rispettivamente per l'inoculo liquido, inoculo liofilizzato e inoculo liofilizzato e adattato in mezzo solido. Aumento termoresistenza: curve di inattivazione per *C. sakazakii* e *S. Typhimurium* a 55°C in soluzione fisiologica sono state ottenute utilizzando separatamente inoculo liquido, inoculo liofilizzato e inoculo liofilizzato adattato. L'adattamento del patogeno nel mezzo liofilizzato, ha comportato un aumento della termoresistenza (calcolata come D_{value}) di 5 volte per *C. sakazakii* e di 3 volte per *S. Typhimurium* (Dalzini et al., 2022) rispetto all'utilizzo dell'inoculo liquido.

Bibliografia

- Agostoni C, Axelsson I, Goulet O, et al. (2004) Preparation and handling of powdered infant formula: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* ;39:320-2.
- Caproli, A., Righi, F., Merigo, D., Dalzini, E., Monastero, P., Cosciani-Cunico, E., Losio, M.N. (2021). Variabilità delle cinetiche di inattivazione di ceppi di *Salmonella* spp.: differenze ceppo-dipendenti e di recupero in base al mezzo culturale utilizzato. XXX Convegno Nazionale A.I.V.I., Webinar, 16-17 e 23-24 Settembre 2021. Abstract book, p. 28.
- Dalzini E., Caproli A, Righi F., Merigo D., Monastero P., Cosciani-Cunico E., Delibato E., Gattuso A., Fiore A., Losio M.N. (2022) Differences of thermal inactivation kinetics of *Cronobacter sakazakii* using Fresh, Dry or Dry-Adapted Inoculum. IAFP's European symposium, Munich, Germany, 4-6 May 2022. Abstract book, p. 79
- EFSA and ECDC (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*;16(12):5500, 262 pp.
- Lang E, Guyot S, Peltier C, et al. Cellular injuries in *Cronobacter sakazakii* CIP 103183T and *Salmonella enterica* exposed to drying and subsequent heat treatment in Milk powder. *Front. Microbiol.* 2018; 9:475.
- Lian F, Zhao W, Yang RJ, et al. Survival of *Salmonella enteric* in skim milk powder with different water activity and water mobility. *Food Control* 2015; 47:1-6.
- Losio, M. N., Pavoni, E., Finazzi, G., Agostoni, C., Daminelli, P., Dalzini, E., ... & Cinotti, S. (2018). Preparation of Powdered Infant Formula: Could Product's Safety be Improved? *J Pediatric Gastroenterol Nutrition*, 67(4), 543-546.