

VALUTAZIONE DI UN METODO ALTERNATIVO PER LA NUMERAZIONE DI BATTERI LATTICI IN FORMAGGIO PECORINO

R. Orteni, E. Scoccia, V. Bazzucchi, S. Benda, R. Roila, A. Valiani, S. Scuota

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia

INTRODUZIONE

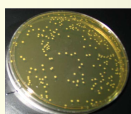
La numerazione dei batteri lattici (LAB) nelle diverse fasi di maturazione del formaggio è utile per comprendere e monitorare l'andamento del processo tecnologico. I metodi ufficiali per la numerazione dei LAB sono basati sulla conta dei microrganismi su piastra, ma spesso i terreni colturali utilizzati non sono sufficientemente selettivi e richiedono una conferma delle colonie, conducendo a una quantificazione dei LAB non puntuale (1, 2, 3, 6).

Scopo del lavoro è stato quello di confrontare i dati ottenuti dalla numerazione dei batteri lattici effettuata con metodo ISO 15214:1998, con quelli ottenuti mediante conta con il sistema automatizzato TEMPO® (BioMérieux).



MATERIALI E METODI

Su sedici lotti di formaggio pecorino è stata eseguita la numerazione dei LAB al tempo 0 (cagliata) e dopo 1, 4, 7, 15, 30, 45 e 60 giorni di stagionatura, per un totale di 128 campioni. La numerazione dei LAB è stata eseguita secondo la norma ISO 15214:1998, effettuando la conferma delle colonie mediante Gram e test della catalasi; parallelamente è stata effettuata una conta con il metodo automatizzato TEMPO®, utilizzando il kit TEMPO LAB (BioMérieux). Il confronto tra i due metodi è stato condotto mediante analisi statistica effettuata con il software Analyse-it sui valori ottenuti convertiti in logaritmo.



TEMPO® – Stazione di preparazione e di lettura



RISULTATI

- Il test di Wilcoxon, in dati non distribuiti normalmente, mostra un $p\text{-value}=0,8463$; ciò indica che tra i due metodi non c'è differenza staticamente significativa.
- Il coefficiente di validità risulta pari al 95%, indicando la correlazione tra il metodo alternativo ed il metodo standard (ISO). La proporzione di variabilità spiegata dai valori veri risulta pari al 91% e la quota dovuta all'errore pari al 9%.
- La concordanza, valutata con il metodo di Bland e Altman ($p=0,5340$), è riportata nelle figure 1 e 2.
- Il bias rilevato (Figura 2) è di $-0,035$ e indica una piccola sottostima del metodo alternativo.

Figura 1: concordanza tra il metodo alternativo e il metodo standard

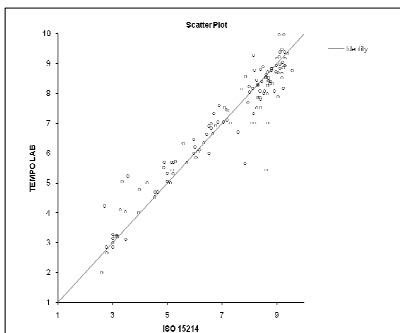


Figura 2: concordanza tra le metodiche con il metodo Bland e Altman

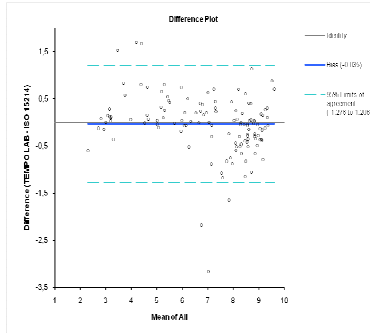
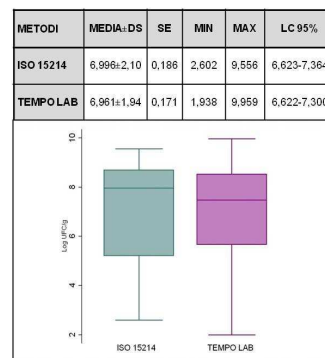


Figura 3: Indici di dispersione e boxplot



DISCUSSIONE

I risultati indicano che i due metodi sono sostanzialmente equivalenti (Figura 3).

La lieve sottostima del metodo alternativo, rispetto al metodo ISO, appare del tutto accettabile in virtù del fatto che la numerazione dei LAB viene effettuata per valutare un andamento della popolazione batterica e non per riferire il valore ad un limite normativo prestabilito.

Il conteggio dei LAB effettuato con il metodo TEMPO® offre però notevoli vantaggi nell'attività routinaria del laboratorio, in quanto elimina:

- la preparazione e il controllo dei terreni colturali;
- l'allestimento e la semina di un elevato numero di diluizioni decimali (il sistema TEMPO® effettua la lettura in un range di 4 log, utilizzando una sola diluizione);
- la fase di lettura delle piastre e la successiva conferma delle colonie.

Inoltre il metodo alternativo consente di ottenere i risultati in 48 ore, contro le 72 ore del metodo ISO, alle quali vanno aggiunte altre 48 ore per una eventuale conferma delle colonie.

L'utilizzo del sistema TEMPO appare pertanto un valido strumento per il conteggio dei batteri lattici nei formaggi, analogamente a quanto riportato in letteratura per la numerazione di altri microrganismi (4, 5, 7).

BIBLIOGRAFIA

1. Caridi A., 2003, Identification and first characterization of lactic acid bacteria isolated from the artisanal ovine cheese Pecorino del Poro. Int. Journal of Dairy Technology, **56(2)**: 105-110.
2. Feutry F., Oneca M., Berthier F., Torre P., 2012, Biodiversity and growth dynamics of lactic acid bacteria in artisanal PDO Ossau-Iraty cheeses made from raw ewe's milk with different starters. Food Microbiology **29(1)**: 33-42.
3. Jany JL., Barbier G., 2008, Culture-independent methods for identifying microbial communities in cheese. Food Microbiology **25(7)**: 839-848.
4. Line J. E., Stern N. J., Oskley B. S., Seal B. S., 2011, Comparison of an Automated Most-Probable-Number Technique with Traditional Plating Methods for Estimating Populations of Total Aerobes, Coliforms, and *Escherichia coli* Associated with Freshly Processed Broiler Chickens. Journal of Food Protection, **74(9)**: 1558-1563.
5. Owen, M., C. Willis, and D. Lamph. 2010. Evaluation of the TEMPO® most probable number technique for the enumeration of *Enterobacteriaceae* in food and dairy products. J. Appl. Microbiol. **109**:1810-1816.
6. Salvadori del Prato O., 2001, Trattato di tecnologia casearia. Calderini Edagricole.
7. Toriak E., Aikan I. M., Gökmen M., 2008, Comparison of TEMPO EC and TBX medium for the enumeration of *Escherichia coli* in cheese. Lett. Appl. Microbiol. **47**:566-570.