

LA NOSTRA  
ESPERIENZA,  
LA VOSTRA  
**SICUREZZA.**

**Prodotti lattiero caseari Lo stato dell'arte tra sicurezza ed etichettatura**

## **Il ruolo del laboratorio di analisi nella sorveglianza delle infezioni da STEC**

**Webinar 14/05/2025**

1

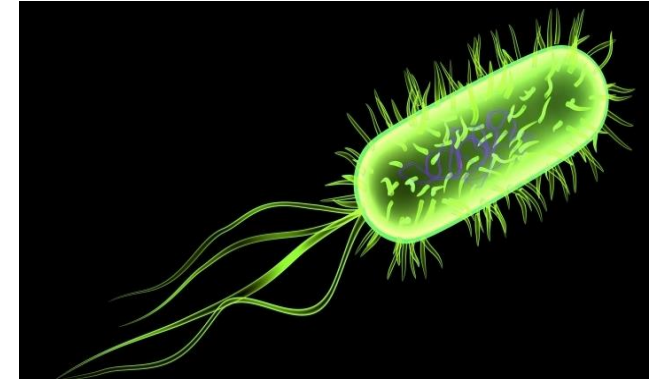


## Problematica da STEC



### Sintomatologia:

- Gastroenterite acuta
- Colite emorragica (HC)
- Sindrome uremico emolitica (SEU: 1983)



Dose infettante variabile per sierotipo (10-100ufc)



## Fonti di contaminazione



- ⇒ Carne cruda o poca cotta (hamburger disease 1982)
- ⇒ Latte crudo e derivati
- ⇒ Vegetali → semi germogliati
- ⇒ Acqua
- ⇒ Altri alimenti







## Episodio epidemico in Nord Europa



- 2011
- Semi germogliati
- 3842 casi
  - 855 SEU → 32 morti
  - 2987 non SEU → 18 morti

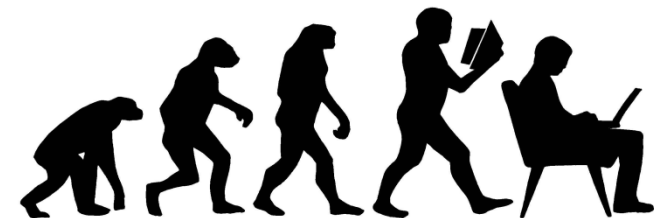




## Da *E.coli* O157:H7 a STEC



- ✓ *E. coli* O157:H7 (VTEC)
- ✓ Top five: O157, O26, O103, O111, O145
- ✓ USA anche O45 e O121
- ✓ Fattori patogenicità ST1, ST2 + *eae*
- ✓ *E. coli* O104: ST2 enteroaggregativo
- ✓ STEC: presenza STX con o senza *eae*
  - Presunta presenza STEC
  - Presenza STEC





# Reg. 2073/05 CE e s.m.i



12.3.2013

IT

Gazzetta ufficiale dell'Unione europea

L 68/19

## REGOLAMENTO (UE) N. 209/2013 DELLA COMMISSIONE

dell'11 marzo 2013

che modifica il regolamento (CE) n. 2073/2005 per quanto riguarda i criteri microbiologici applicabili ai germogli e le norme di campionamento per le carcasse di pollame e la carne fresca di pollame

(Testo rilevante ai fini del SEE)

### ALLEGATO

L'allegato I del regolamento (CE) n. 2073/2005 è così modificato:

1) il capitolo 1 è modificato come segue:

- a) la nota 12 è cancellata;
- b) nella riga 1.18 il riferimento alla nota 12 è sostituito dal riferimento alla nota 23;
- c) vengono aggiunte la seguente riga 1.29 e le corrispondenti note 22 e 23:

«1.29 Germogli <sup>(23)</sup>	<i>E. coli</i> produttori di tossina Shiga (STEC) O157, O26, O111, O103, O145 e O104:H4	5	0	Assente in 25 grammi	CEN/ISO TS 13136 <sup>(22)</sup>	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
--------------------------------	---	---	---	----------------------	----------------------------------	--

<sup>(22)</sup> Tenuto conto dell'aggiornamento più recente del laboratorio comunitario di riferimento per l'*Escherichia coli*, nonché per gli *E. coli* produttori di verocitotossine (VTEC), ai fini del rilevamento dello STEC O104:H4;

<sup>(23)</sup> Esclusi i germogli che hanno ricevuto un trattamento efficace teso a eliminare *Salmonella* spp e STEC.»



## Linee Guida per i campionamenti .....



All. 7: STEC sono indicati come criteri di Sicurezza aggiuntivi per

- Carni fresche da consumare crude (carpaccio, etc.)
- Carni macinate, preparazioni di carne RTE (tartare, etc.)
- Prodotti a base di carne (salumi)
- Latte crudo destinato al consumo diretto
- Prodotti a base di latte crudo
- Altri vegetali pronti al consumo (frutta e verdura)





# STEC quale ruolo per il laboratorio?



Analisi nell'ambito dei piani di campionamento



Supporto alle produzioni mediante esecuzione di challenge test







# Attività analitica per ricerca STEC



**TOTALE CAMPIONI ANALIZZATI 2023-25: 5527**



PRODOTTI LATTIERO CASEARI

2238



CARNE E DERIVATI

1633



ZUPPE, BRODI, SALSE

716



FRUTTA E VERDURA

299



PIATTI PRONTI

192

ALTRO

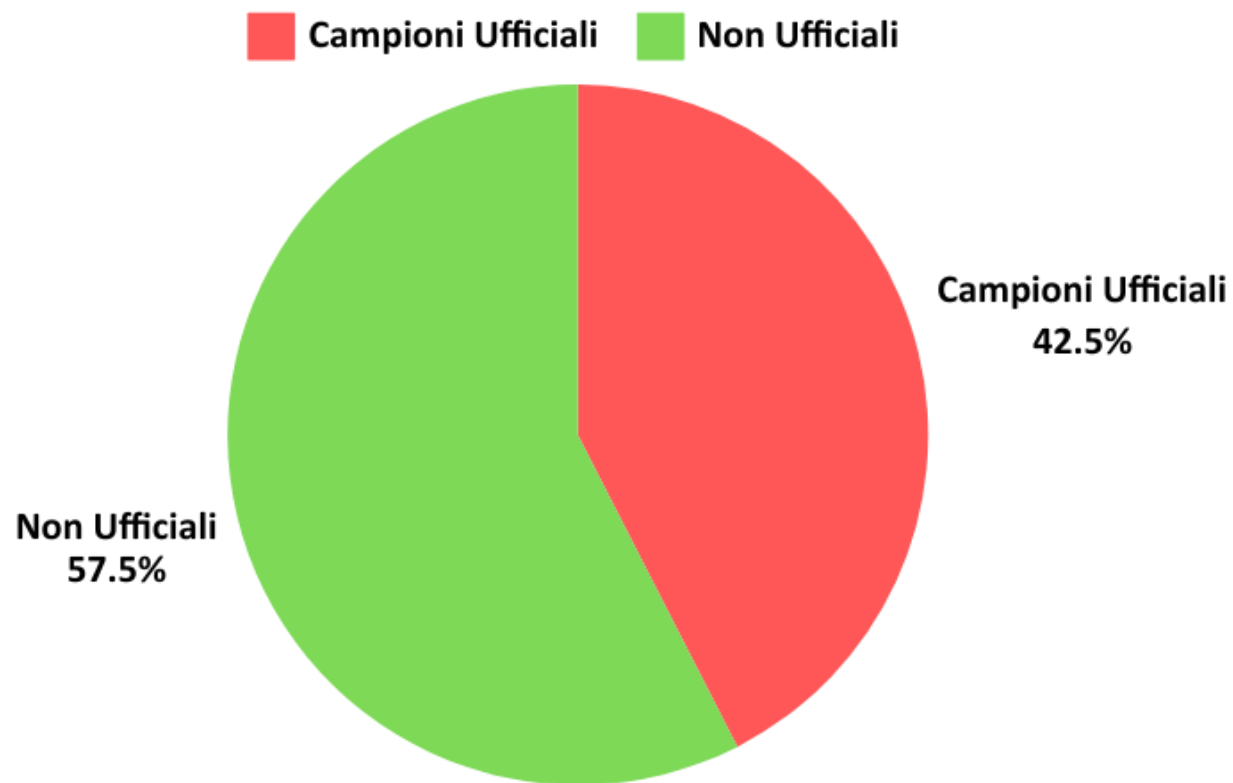
499

0 500 1000 1500 2000 2500

**Analisi eseguite in accordo al metodo normato ISO/TS 13136:2012**



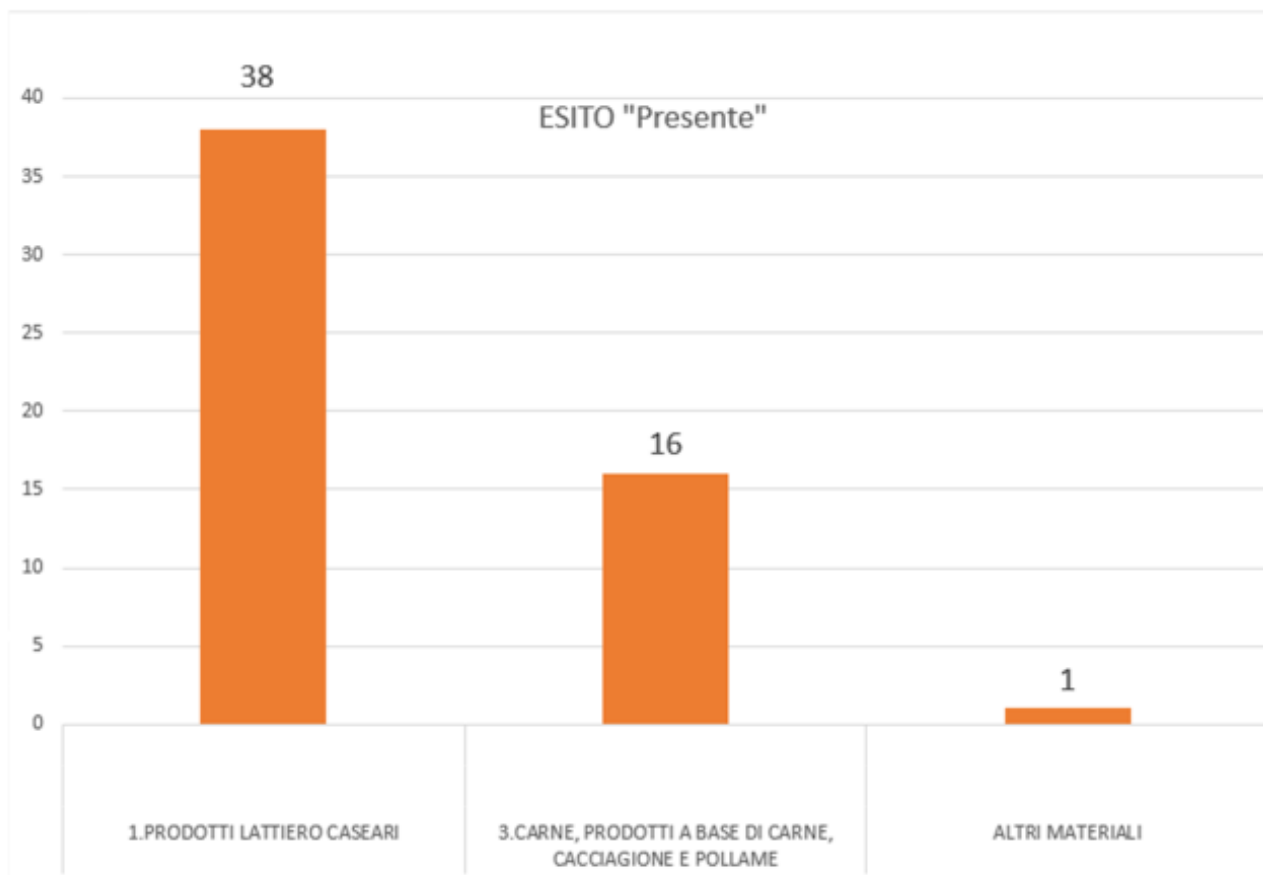
## Tipologie di campioni analizzati



**Totali: 5527**

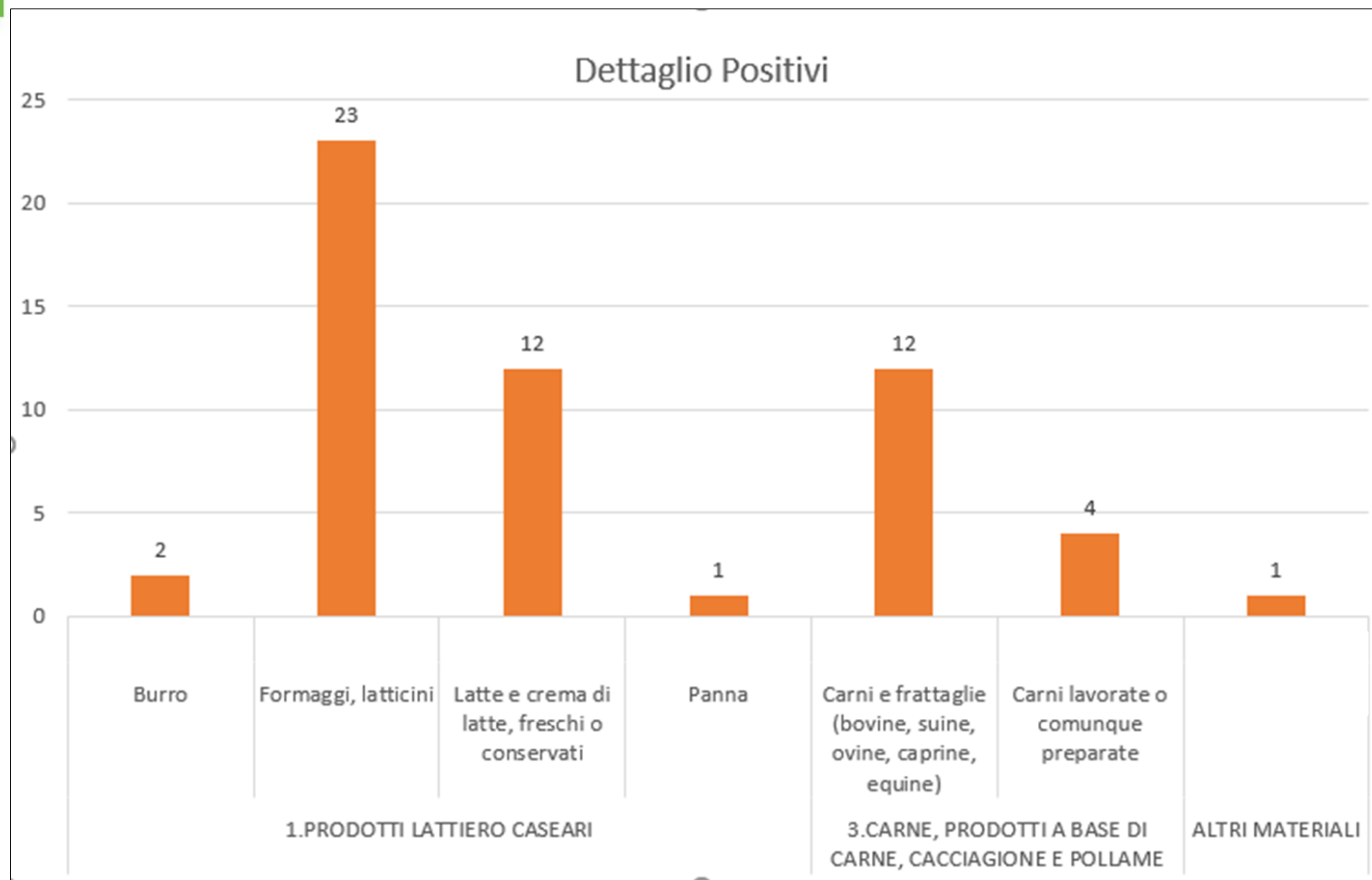


## Esiti analitici: dati totali (presenza)





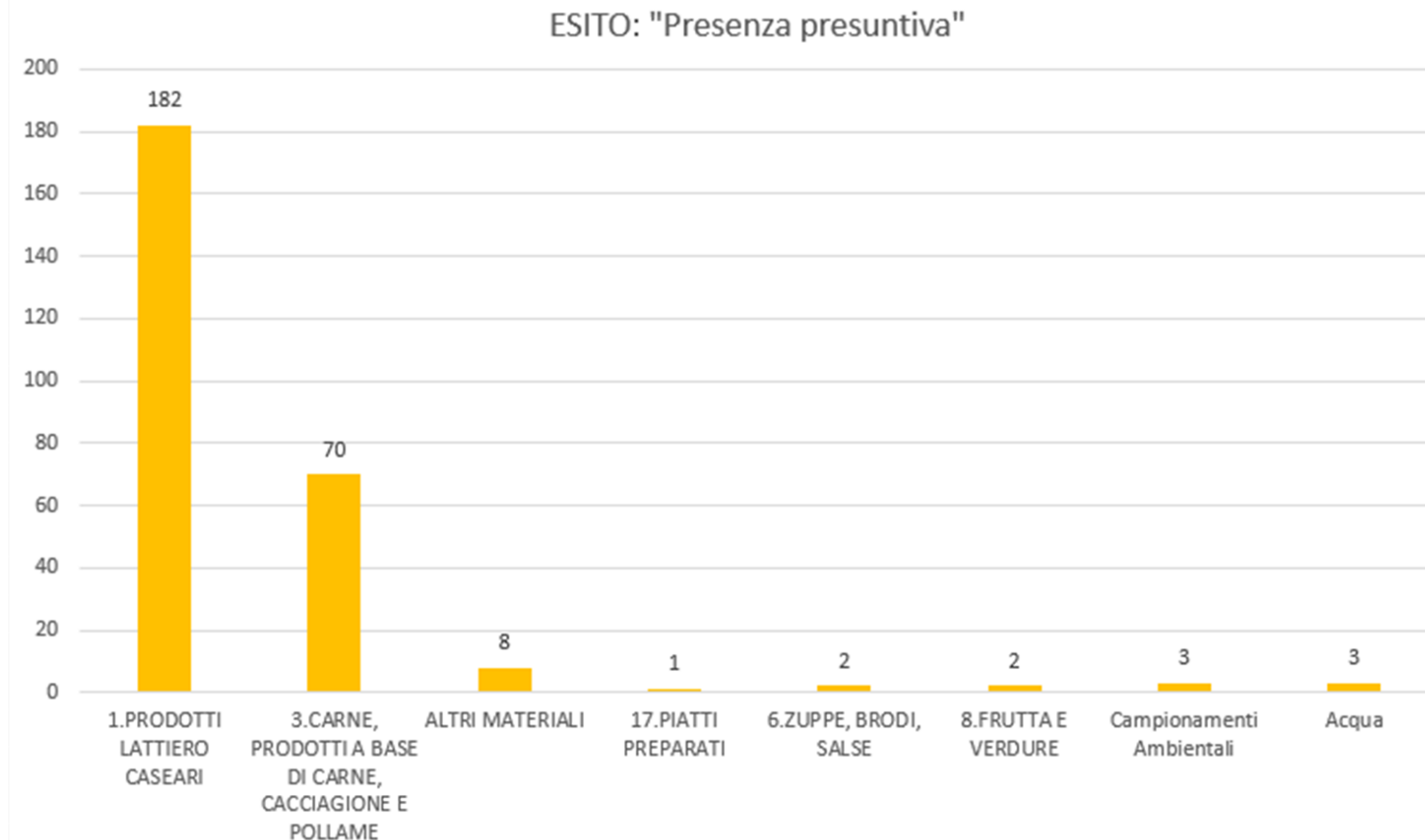
## Esiti analitici: dettaglio







## Esiti analitici: dati totali (presenza presunta)





**Parere MinSal DGSAN 0030360-P-21/07/2017**



## Esiti analitici: pbl vs pbc

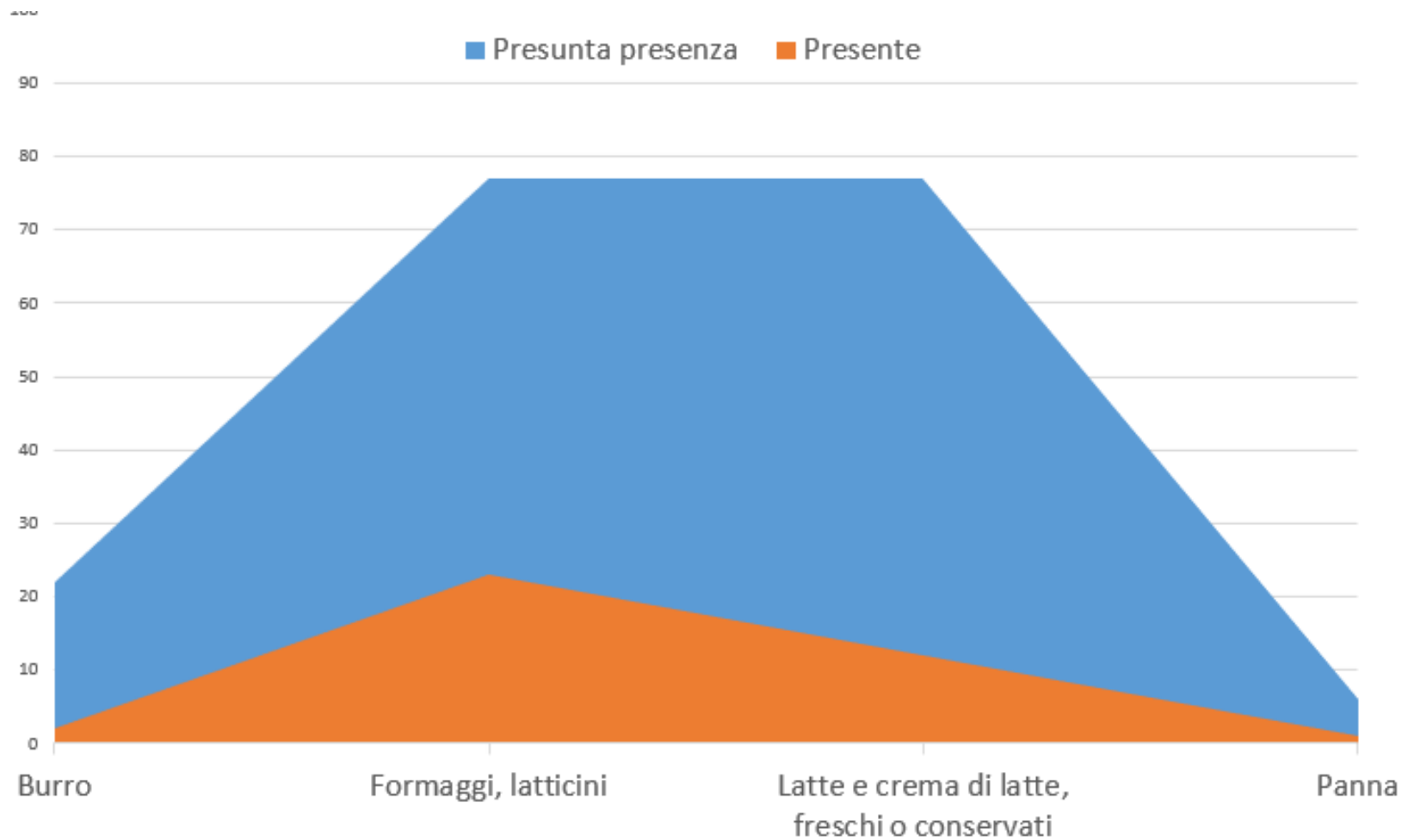


CATEGORIA	PRESENZA	PRESUNTA PRESENZA	TOTALI	PREVALENZA PRESENZA
	38	182	1850	2,1% IC 95%: 1,5-2,8%
	16	70	1443	1,1% IC 95%: 0,8-1,8%

Test del Chi-quadro: **p-value= 0.04**, indica una differenza statisticamente significativa tra la prevalenza nelle due categorie alimentari



## Esiti analitici: prodotti a base di latte





LA NOSTRA  
ESPERIENZA,  
LA VOSTRA  
**SICUREZZA.**

# **Studio dell'inattivazione dei principali patogeni di interesse alimentare durante le fasi di caseificazione – formatura- stagionatura di Grana Padano DOP**

## **Protocollo sperimentale IZSLER n° 24/2024**

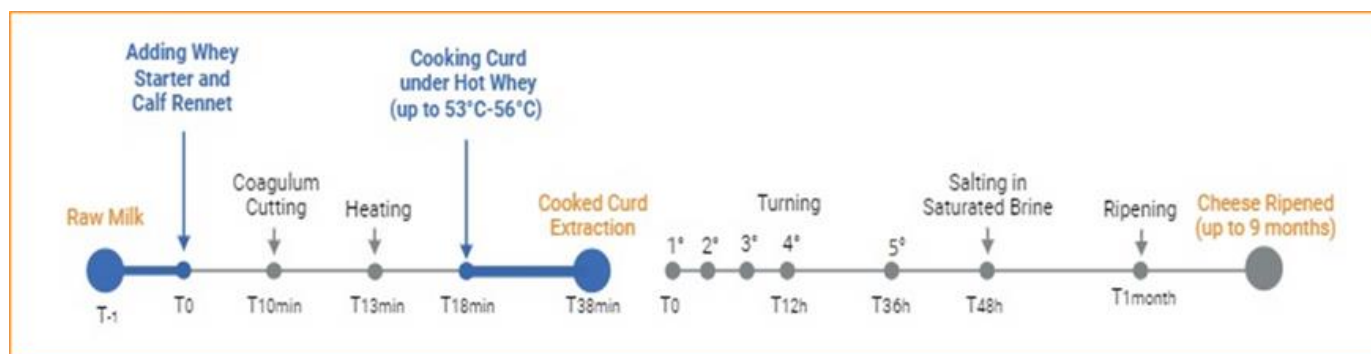




# Disegno sperimentale



Senza geni Stx



3 Ripetizioni indipendenti

Tmax 52.5 °C - 53.5 °C (caso peggiore)





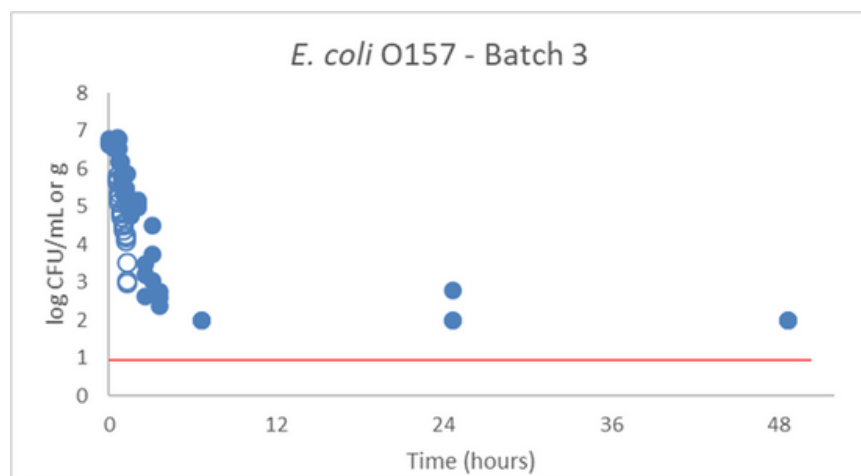
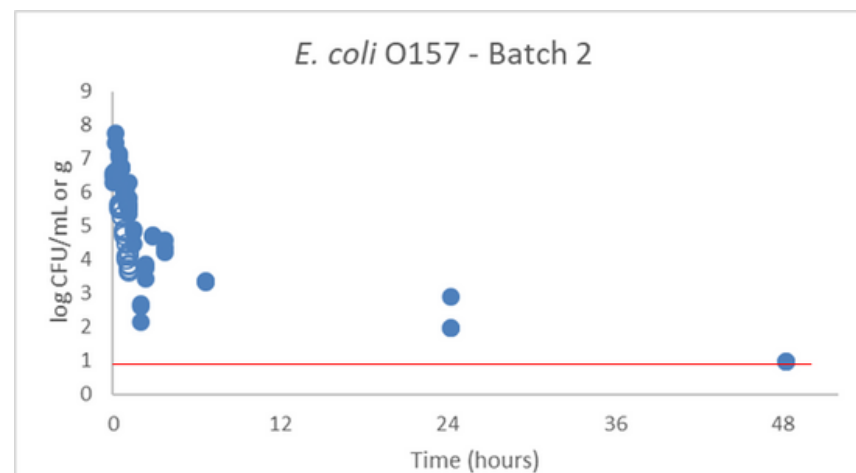
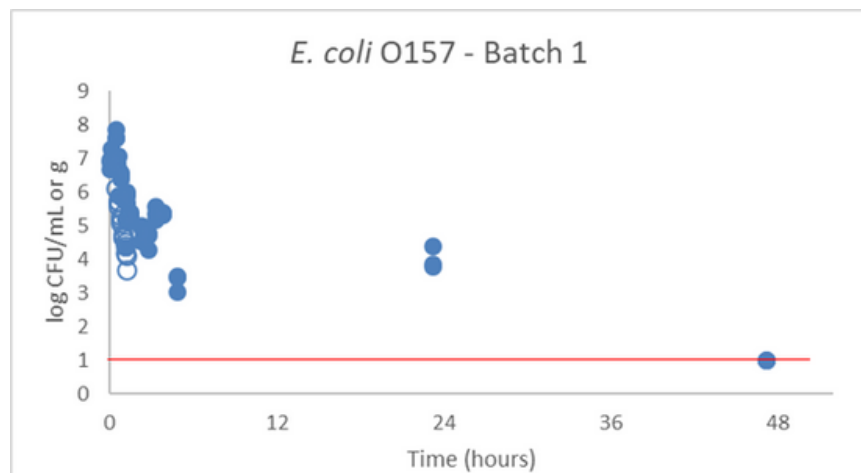




# Andamento *Escherichia coli* O157



Durante le prime 48 ore di processo



- Limite di rilevabilità
- Esiti sul latte / cagliata / formaggio
-

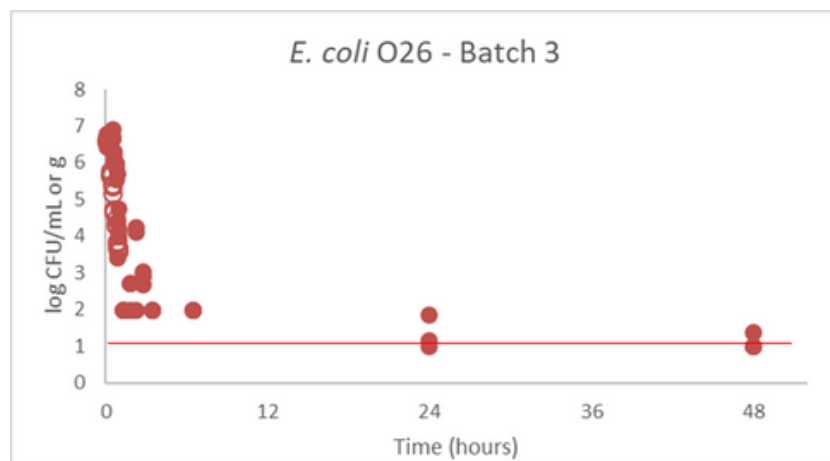
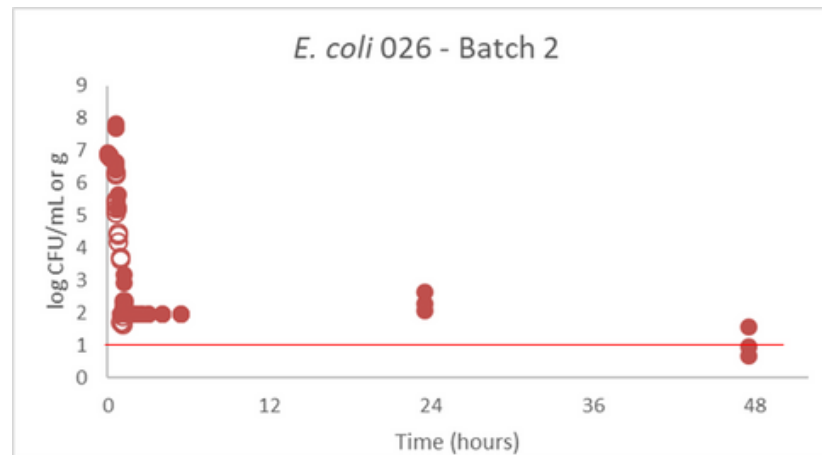
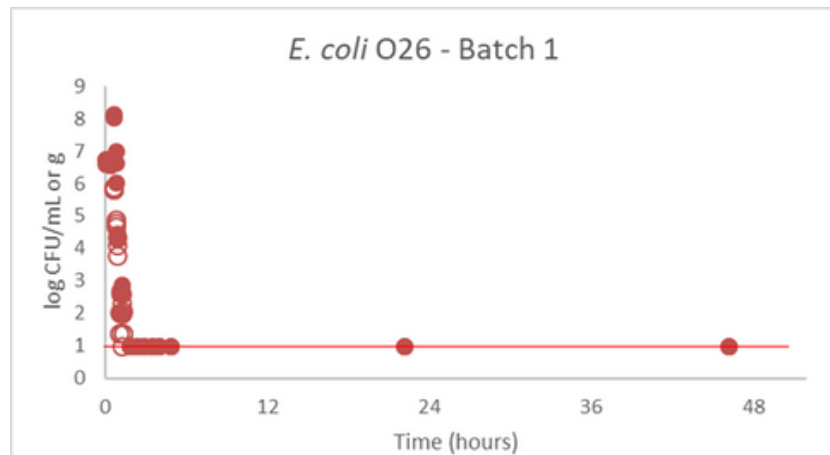




# Andamento *Escherichia coli* O26



Durante le prime 48 ore di processo



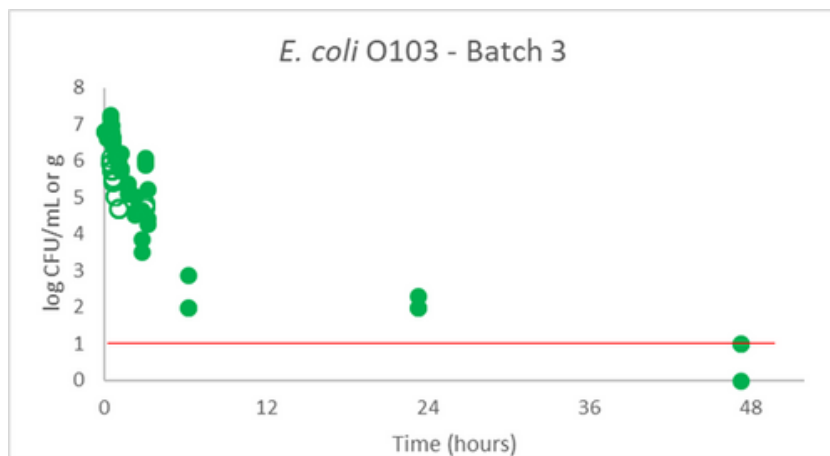
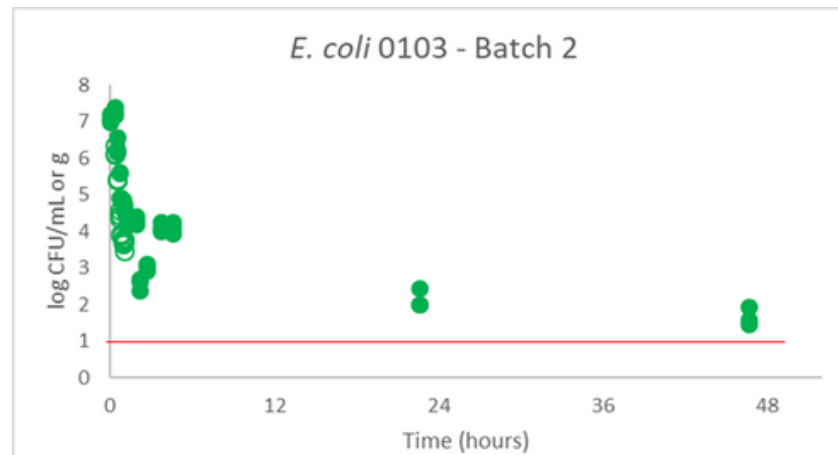
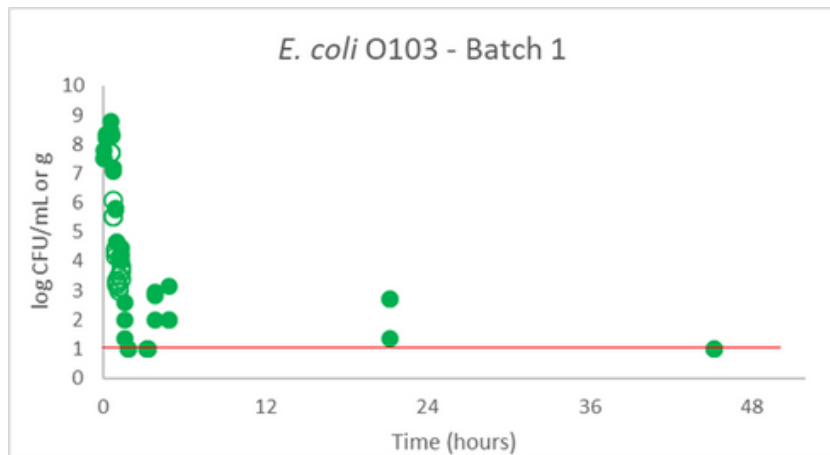
- Limite di rilevabilità
- Esiti sul latte / cagliata / formaggio
- Esiti sul siero



# Andamento *Escherichia coli* O103



Durante le prime 48 ore di processo



- Limite di rilevabilità
- Esiti sul latte / cagliata / formaggio
- Esiti sul siero



LA NOSTRA  
ESPERIENZA,  
LA VOSTRA  
**SICUREZZA.**

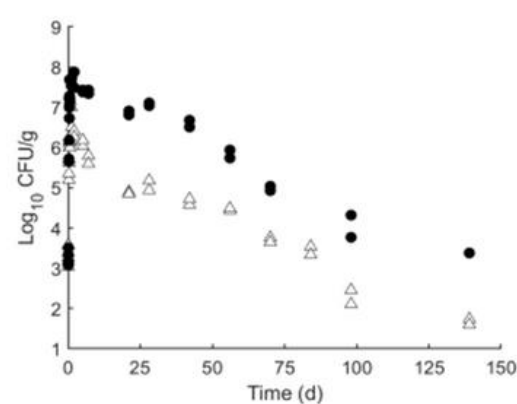
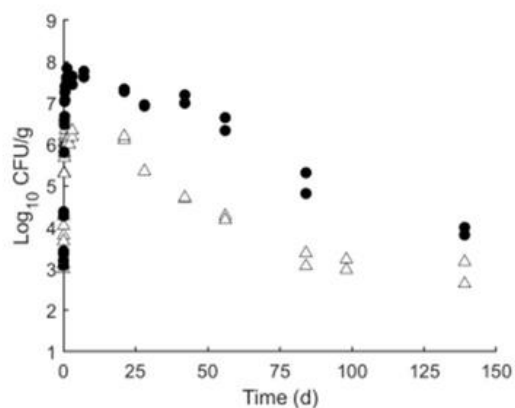
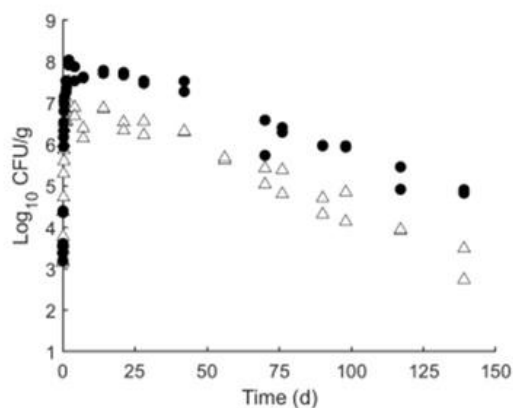
## Challenge test: Studio del comportamento di *E. coli* STEC in formaggi a latte crudo



# Formagelle a latte crudo



- In 24-48 h incremento massimo di *E. coli* O157 ( $\Delta$ ) 4.3; O26 ( $\bullet$ ) 4.8 log UFC/g
- In 4 mesi inattivazione minima di *E. coli* O157 ( $\Delta$ ) 2.9; O26 ( $\bullet$ ) 2.6 log UFC/g







# Formai de Mut



- In 24h incremento massimo di *E. coli* O157 (■)  $\cong 2$  log (UFC/g)
- In 60 giorni inattivazione minima di *E. coli* O157 (■)  $\cong 0.5$  log (UFC/g)

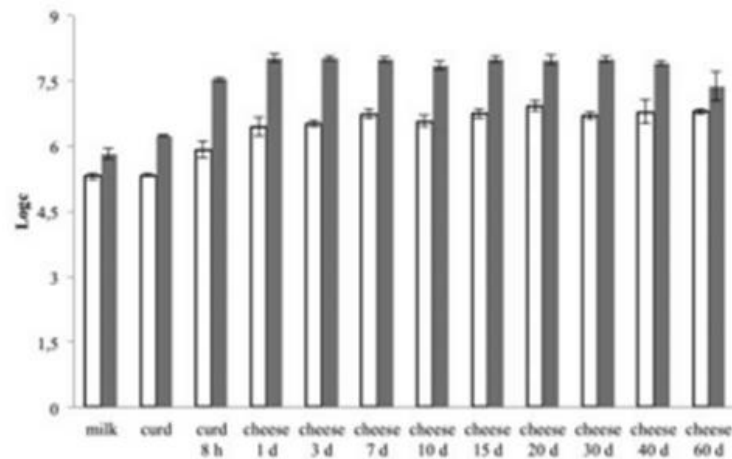


Figure 1. Logc concentration of *Listeria monocytogenes* (white bars) and *Escherichia coli* O157:H7 (grey bars), throughout the cheese making and ripening of short ripened cheese. Values are obtained from the average and standard deviations of three samples at each sampling time.

**Behaviour of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 during the cheese making of traditional raw-milk cheeses from Italian Alps**

Elena Cosciani-Cunico,<sup>1</sup> Elena Dalzini,<sup>1</sup>  
Stefania Ducoli,<sup>1</sup> Chiara Sfameni,<sup>1</sup>  
Barbara Bertasi,<sup>1</sup> Marina-Nadia Losio,<sup>2</sup>  
Paolo Daminelli,<sup>1</sup> Giorgio Varisco<sup>1</sup>

Italian Journal of Food Safety 2015; volume 4:4585



# Modelli predittivi



*E. coli* O157 differenza fra la concentrazione iniziale e la concentrazione prima della salamoia in funzione della temperatura e del pH

Parmigiano Reggiano  
Grana Padano

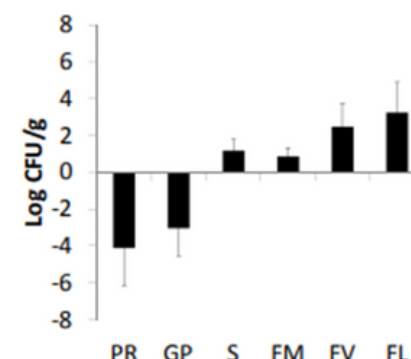
Inattivazione > 3 log UFC/g

Silter  
Formai de mut

Incremento < 2 log UFC/g

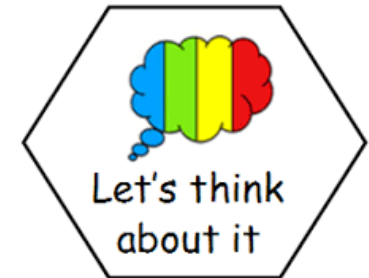
Formaggella Luinese  
Formaggella Valsassina

Incremento > 3 log UFC/g





## Considerazioni



- Nei formaggi a latte crudo, dove **non avviene la cottura** della cagliata, la concentrazione di *E. coli* **STEC** aumenta significativamente (>4 log) fino alla fase di salamoia. Dopo 60 giorni di stagionatura la diminuzione può non essere significativa, dopo 4 mesi la riduzione logaritmica può essere < 3 log.
- Nei formaggi a latte crudo, dove **avviene la cottura** della cagliata (>52.5°C), la concentrazione di *E. coli* **STEC** si riduce significativamente > 5 log fino alla fase di salamoia.





# Rischio STEC nei formaggi: dati bibliografici



Tipologia di formaggio	Obiettivo di avere almeno 5 riduzioni decimali degli STEC aggiunti al latte			Formaggi per i quali è stato realizzato il Challenge test	Rischio da STEC
	Se ...	Quando ...	Perché (ipotesi)		
<b>Formaggi a pasta cotta a temperatura elevata (maggiore di 52°C)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Coltura starter che utilizza il galattosio (siero-innesto).</li> <li>Cottura dei granuli di cagliata a 53 o 55°C.</li> <li>Sosta della cagliata cotta sotto siero caldo &gt; 30 min.</li> <li>Raffreddamento lento della cagliata in fascera (peso forma &gt; 35 kg).</li> <li>Acidificazione rapida (pH &lt; 5,3 max al cuore entro 24 h).</li> <li>Esaurimento lattosio e galattosio a 24 h.</li> </ul>	Obiettivo raggiunto già prima della salagione (48 h)	L'inattivazione di STEC è il risultato della combinazione di diversi fattori di stress che non richiedono il contributo di salagione e stagionatura. Salagione e lunga stagionatura in ogni caso potranno aumentare l'effetto letale anche oltre le 5 riduzioni decimali	Parmigiano Reggiano DOP  Grana Padano DOP  <i>(Panari 2001; ISZLER progetto Siforti; Consorzio IZSLER 2025)</i>	<b>Assente</b> , risultati confermati da più repliche del Challenge test
<b>Formaggi di latte di pecora a pasta semicotta</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Coltura starter selezionata che, nel caso in esame, non utilizza il galattosio.</li> <li>Cottura dei granuli di cagliata a 45°C.</li> <li>Pressatura della cagliata prima della formatura (forma di 25 kg).</li> <li>Acidificazione molto rapida della cagliata (pH 5,3 entro circa 3 h).</li> <li>Salagione (NaCl &gt; 13% su frazione umida) (<math>a_w = 0,89</math>).</li> </ul>	Obiettivo raggiunto dopo 90 giorni (fine salagione, in stagionatura)	L'inattivazione di STEC appare il risultato dello stress supplementare dato dalla forte presenza di sale in una matrice caratterizzata da una acidificazione molto rapida e dal tempo di stagionatura	Pecorino Romano DOP  <i>(Lai et al. 2020)</i>	<b>Assente</b> , a condizione che permanga l'elevato contenuto di NaCl, in caso di riduzione di NaCl la valutazione è da riconsiderare
<b>Formaggi di latte di pecora a pasta cruda</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Senza starter.</li> <li>Acidificazione probabilmente lenta (pH circa 5,0 a 46 h).</li> <li>Salagione di forme di 1,5-2 kg in salamoia (%NaCl nd)) per 40 h.</li> <li>Stagionatura fino a 90 giorni a 12°C e UR 80%.</li> </ul>	Obiettivo raggiunto al 90° giorno nonostante una fase iniziale di aumento di carica di STEC	Le 5 riduzioni decimali di STEC si hanno tra 60 e 90 giorni, senza potere fare ipotesi sui tipi di stress. Resta il dato empirico della forte riduzione di carica di STEC	Pecorino Umbro-Abruzzese  <i>(Centorotola et al 2021)</i>	<b>Può essere assente</b> , a condizione che la stagionatura raggiunga almeno 90 giorni e siano riprodotte le condizioni di processo usate nel test
<b>Formaggi di latte di pecora a pasta semicotta</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Senza starter.</li> <li>Cottura granuli cagliata a 41 o 45°C.</li> <li>Acidificazione probabilmente lenta (pH circa 5,0 a 46 h).</li> <li>Salagione di forme di 1,5-2 kg in salamoia (%NaCl nd)) per 15-24 h.</li> <li>Stagionatura fino a 60 giorni a 12°C e UR 80%.</li> </ul>	Obiettivo non raggiunto e presenza di una fase iniziale di aumento di carica di STEC	Il riscaldamento della cagliata a temperatura non di inattivazione di STEC, unitamente ad acidificazione lenta potrebbe avere favorito la crescita di STEC. Le diverse condizioni di salagione e l'arresto della stagionatura a 60 giorni non hanno permesso di verificare un'eventuale prosecuzione della fase di mortalità di STEC	Pecorino Umbro-Abruzzese  <i>(Centorotola et al 2021)</i>	<b>Può essere presente</b> ; rischio moderato, a condizione che si ripetano le condizioni di processo, fattore difficilmente prevedibile vista la tecnologia di caseificazione in uso





# Rischio STEC nei formaggi: dati bibliografici



Tipologia di formaggio	Obiettivo di avere almeno 5 riduzioni decimali degli STEC aggiunti al latte			Formaggi per i quali è stato realizzato il Challenge test	Rischio da STEC
	Se ...	Quando ...	Perché (ipotesi)		
<b>Formaggi a pasta cotta e filata</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Coltura starter (siero-innesto)</li> <li>Cottura granuli di cagliata a temperatura di 45°C</li> <li>Acidificazione molto rapida a pH &lt;5,0</li> <li>Filatura cagliata acida con H<sub>2</sub>O a 60-68°C per tempi di 7-11 min con temperatura pasta compresa tra 55 e 65°C</li> </ul>	Obiettivo raggiunto dopo filatura con H <sub>2</sub> O a 68°C  Obiettivo raggiunto dopo salagione se la filatura è applicata in condizioni meno drastiche	L'inattivazione di STEC richiede condizioni di filatura opportune o l'interazione con gli effetti supplementari di sale e stagionatura	Provolone  <i>(Cosciani-Cunico, E., Dalzini E., Monastero, Norton, A., Losio, M.N., 2022)</i>	<b>Può essere assente</b> , in funzione delle condizioni di filatura
<b>Formaggi a pasta cruda filata</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Senza starter (non dichiarato)</li> <li>Acidificazione lenta (pH 5,2 dopo 6-7 h)</li> <li>Filatura con H<sub>2</sub>O a 70 o 80°C per 5 min</li> </ul>	L'obiettivo di 5D di STEC è stato raggiunto <b>solo</b> nel caso di filatura con H <sub>2</sub> O a 80°C	il responsabile primario dell'inattivazione di STEC è il trattamento termico quando è applicabile in misura efficace.	Mozzarella  <i>(Spano 2003)</i>	<b>Può essere assente</b> , in funzione delle condizioni di filatura
<b>Formaggi di monte a pasta semicotta</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Senza starter.</li> <li>Cottura dei granuli di cagliata a 45°C per 15 min.</li> <li>Pressatura in stampo per 3 h.</li> <li>Acidificazione molto lenta (pH &gt; 6,0 dopo 24 ore); pH 5,1 dopo 3 giorni.</li> <li>Stagionatura per 120 giorni a 12°C.</li> </ul>	L'obiettivo di 5D di STEC non è stato raggiunto nel tempo di stagionatura	Nella prima fase della trasformazione è stata osservata crescita di STEC in quanto le condizioni favorevoli alla moltiplicazione microbica hanno prevalso sui fattori di stress. La mortalità inizia a manifestarsi dopo il primo mese di stagionatura	Denominazione esatta del formaggio non specificata  <i>(Cosciani-Cunico E., Dalzini E., Ducolet S., Sfameni C., Bertosi B., Losio M.N., Daminelli P., Varisco G., 2015)</i>	<b>Può essere presente</b> ; rischio moderato
<b>Formaggi di monte a pasta semicotta</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Senza starter.</li> <li>Cottura dei granuli di cagliata a 46°C per 15 min.</li> <li>Acidificazione lenta e scarsa (pH 5,5 dopo 24 ore e per il resto della stagionatura).</li> <li>Stagionatura per 12 mesi.</li> </ul>	L'obiettivo di 5D di STEC è stato conseguito dopo 1 mese di stagionatura	La riduzione della carica di STEC prosegue con la stagionatura. Mancano dati per ipotizzare le ragioni della rapidità con la quale sono state conseguite le 5 riduzioni decimali di STEC. Resta il dato empirico della forte riduzione di carica di STEC	Bagoss  <i>(De Nadai, 2009)</i>	<b>Può essere assente</b> , a condizione che siano riprodotte le condizioni di processo usate nel test



# Rischio STEC nei formaggi: dati bibliografici



Tipologia di formaggio	Obiettivo di avere almeno 5 riduzioni decimali degli STEC aggiunti al latte			Formaggi per i quali è stato realizzato il Challenge test	Rischio da STEC
	Se ...	Quando ...	Perché (ipotesi)		
Formaggi di monte a pasta semicotta	<ul style="list-style-type: none"> <li>Starter a base di <i>Streptococcus thermophilus</i>, <i>Lactococcus lactis</i> e <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. (starter potenzialmente galattosio positivo).</li> <li>Cottura dei granuli di cagliata a 48°C.</li> <li>Pressatura per 20 h.</li> <li>Acidificazione non rapida; pH 5,4 dopo 24 h.</li> <li>Salagione in salamoia.</li> <li>Stagionatura per 80 giorni a 10°C con UR 90%.</li> </ul>	L'obiettivo di 5D di STEC non è stato raggiunto nel tempo di stagionatura	Durante la pressatura è stata osservata crescita di STEC in quanto l'equilibrio tra fattori di stress e condizioni favorevoli alla duplicazione microbica è stato favorevole alle seconde. La mortalità inizia a manifestarsi dopo due settimane di stagionatura	Fontina DOP (Bellio et al. 2018)	Può essere presente; rischio moderato
Formaggi di capra con coagulazione enzimatica a pasta leggermente semicotta	<ul style="list-style-type: none"> <li>Starter "indigeno" non specificato.</li> <li>Riscaldamento granuli cagliata da 32 a 38°C.</li> <li>Acidificazione molto lenta (pH 5,8 dopo 24 h; pH 5,2 dopo 3 giorni).</li> <li>Stagionatura a 12°C per 30 giorni.</li> </ul>	L'obiettivo di 5D di STEC non solo non è stato raggiunto, ma è stata osservata una carica di STEC che aumenta nel formaggio fino al 9° giorno per poi restare stabile.	In assenza di fattori di stress misurabili, STEC può non solo sopravvivere ma anche moltiplicarsi	Formaggelle di capra (Cosciani-Cunico E., Dalzini E., D'Amico S., Sfameni C., Bertasi B., Losio M.N., Giacometti F. e Daminelli P., 2014)	Potenzialmente elevato
Formaggi a pasta molle a pasta cruda	<ul style="list-style-type: none"> <li>Senza starter.</li> <li>Nessun riscaldamento dei granuli di cagliata.</li> <li>Acidificazione lenta (pH &gt; 5,5 dopo 24 ore).</li> <li>Stagionatura per 60 giorni a 5°C.</li> </ul>	L'obiettivo di 5D di STEC non solo non è stato raggiunto, ma è stata osservata, dopo 1 giorno, una carica di STEC superiore a quella aggiunta al latte e che permane per tutta la stagionatura	In assenza di fattori di stress misurabili, STEC può non solo sopravvivere ma anche moltiplicarsi	Formaggella di monte (Cosciani-Cunico E., Dalzini E., D'Amico S., Sfameni C., Bertasi B., Losio M.N., Giacometti F. e Daminelli P., 2014)	Potenzialmente elevato
Formaggi a pasta molle a pasta cruda	<ul style="list-style-type: none"> <li>Senza starter.</li> <li>Riscaldamento dei granuli di cagliata a 40°C per 10 min.</li> <li>Acidificazione rapida (pH &lt; 5.2 in 15 ore).</li> <li>Stagionatura a 8°C per 140 giorni (estremizzata).</li> </ul>	L'obiettivo di 5D di STEC non solo non è stato raggiunto, ma è stata osservata una carica di STEC che aumenta nel formaggio	In assenza di fattori di stress misurabili, STEC può non solo sopravvivere ma anche moltiplicarsi	Formaggella a latte crudo di vacca (Le Marc Y., Cosciani-Cunico E., Dalzini E., Monastero P., Abdul M.E., Merigo D. e Losio M.N., 2025)	Potenzialmente elevato



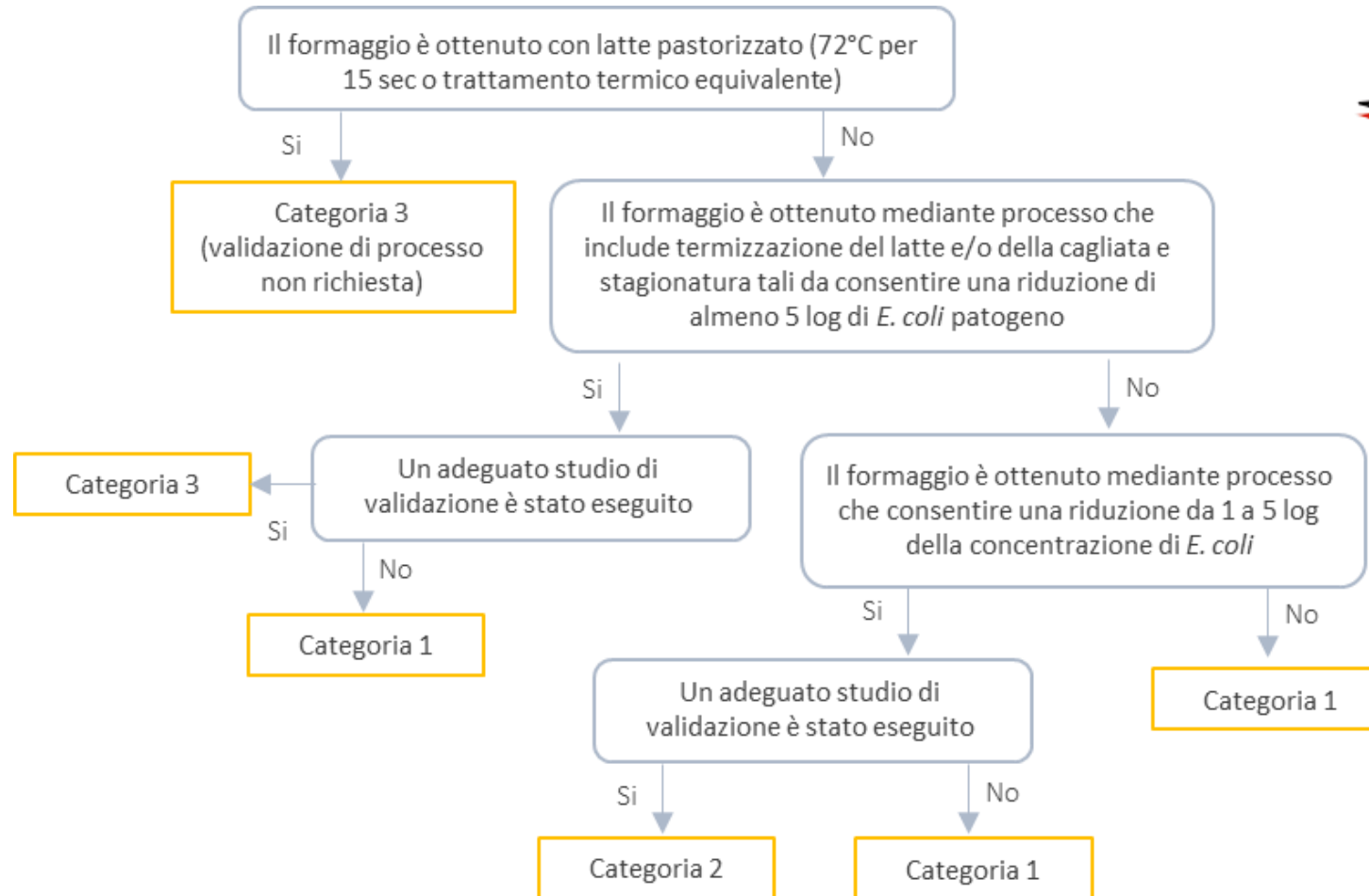
# Categorizzazione dei formaggi in base al rischio STEC



- ✓ Categoria 1: comprende formaggi per i quali il processo produttivo non è in grado di impedire lo sviluppo o di inattivare di almeno 1 log la concentrazione di *E. coli* eventualmente presente nel latte
- ✓ Categoria 2: comprende formaggi per i quali il processo produttivo è in grado di inattivare da 1 a 5 log la concentrazione di *E. coli* eventualmente presente nel latte
- ✓ Categoria 3: comprende formaggi per i quali il processo produttivo è in grado di inattivare di almeno 5 log la concentrazione di *E. coli* eventualmente presente nel latte



# Categorizzazione dei formaggi in base al rischio STEC







ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA  
"BRUNO UBERTINI"  
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Sede Centrale Brescia  
Via Bianchi, 9 - 25124 Brescia - Italy  
T. +39 030 2290.1 - F. +39 030 2425251  
info@izsler.it - www.izsler.it