

# Presenza di patogeni umani in compost e biochar prodotti in Europa

Walter Chitarra\* - Massimo Pugliese\*<sup>\*\*\*</sup> - Maria Lodovica Gullino\*<sup>\*\*\*</sup> - Angelo Garibaldi\*

\*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

\*\*Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

La presenza di patogeni umani [*Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* STEC: (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*)] sui prodotti ortofrutticoli (Human Pathogen on Plants, HPOP) costituisce un importante problema di sicurezza alimentare in molti Paesi, anche a causa delle ottime capacità di sopravvivenza dimostrata da tali microrganismi. L'interesse fitopatologico di tale fenomeno è legato alla capacità, oramai ampiamente dimostrata nel caso di alcuni ceppi patogeni umani, di colonizzare il suolo e gli ospiti sopravvivendo all'interno delle foglie, anche nelle parti interne, con meccanismi talvolta simili a quelli utilizzati dai patogeni vegetali veri e propri con il conseguente inserimento nella catena alimentare. Le cause della presenza di tali microrganismi patogeni sui prodotti di quarta gamma e nei suoli, è attribuibile alla mancanza di igiene, all'uso di ammendanti organici contaminati e alle acque di scolo infette utilizzate per l'irrigazione nelle colture in pieno campo (Gagliardi e Karns, 2002).

La tecnica del compostaggio prevede la trasformazione di scarti organici, come ad esempio la frazione umida dei rifiuti solidi urbani, in un ammendante di qualità per le colture agricole. A fronte di quanto citato e vista la provenienza del materiale di partenza, un'adeguata analisi si rende necessaria per valutarne la qualità e limitare i rischi per il consumatore anche nel rispetto della legislazione che prevede, per i compost, l'assenza di *Salmonella enteritidis* e una ridotta carica di coliformi.

Il biochar è carbone vegetale che si ottiene dalla pirolisi di diversi tipi di biomassa vegetale. Di particolare interesse risulta la sua produzione a partire da residui/sottoprodotti agricoli: potature, stoppie di mais o grano, lolla di riso, mallo di mandorla, fogliame secco, ecc. La pirolisi permette di ottenere un gas (syngas) con un potere calorifico pari al GPL che può essere utilizzato in processi produttivi che richiedano energia termica (ad esempio per la produzione di energia elettrica), e biochar o carbone vegetale. Il biochar (90% di contenuto di carbonio), se applicato ai suoli, è un efficace ammendante. La sua alta porosità aumenta la ritenzione idrica e quella degli elementi nutritivi che rimangono più a lungo disponibili per le piante; migliora inoltre la struttura del terreno e le sue proprietà diminuendo il fabbisogno di acqua e fertilizzanti.

Questo lavoro ha avuto lo scopo di valutare la presenza di HPOP in compost e biochar prodotti in Europa.

Risultati preliminari sono stati ottenuti mediante l'analisi di 19 campioni provenienti da diversi tipi di compost e biochar per la ricerca e l'identificazione degli HPOP avvalendosi di tecniche molecolari (Real time PCR, qPCR) e microbiologiche classiche. I patogeni *target* ricercati sono quelli appartenenti ai generi *Salmonella*, *Listeria* (Fig. 30 pag. 69) e ad *Escherichia coli* STEC compresa la sierotipizzazione molecolare in caso di positività. I campioni sono stati sottoposti ad arricchimento in brodi selettivi per ciascun patogeno e, a seguito dell'estrazione di DNA direttamente dal brodo di arricchimento, è stata messa a punto ed ottimizzata la qPCR, tecnica molto sensibile che

si avvale di sonde specifiche per l'identificazione degli HPOP mediante l'ausilio di kit commerciali conformi alle normative europee. In caso di positività, si è proceduto con le analisi di vitalità in piastra, su terreni di crescita selettivi a seguito di diluizioni seriali, ed eventuale conta della carica microbica presente.

Le prime osservazioni sui campioni di compost analizzati mostrano l'assenza di *S. enteritidis* in tutte le matrici osservate, mentre alcuni campioni sono risultati positivi a *L. monocyrogenes* e a *E. coli* STEC entrambe vitali nei terreni agarizzati selettivi con cariche in un range di  $10^3 - 10^4$  CFU mL<sup>-1</sup>. I campioni di biochar analizzati sono risultati negativi alle analisi molecolari, questo probabilmente a seguito delle differenti metodiche di trasformazione dei due ammendanti.

Ulteriori approfondimenti sono necessari, che prevedano l'analisi dell'eventuale contaminazione delle piante coltivate da parte dei microrganismi enterici, lo studio dell'interazione con la microflora del compost e delle piante tramite PCR-DGGE e l'eventuale persistenza nei substrati nel tempo dei tre patogeni oggetto di studio a seguito di inoculazione artificiale.

### **Ringraziamenti**

Lavoro svolto con un contributo dell'Unione Europea (7th Framework Programme of RTD, Theme 2 - Food, Agriculture and Fisheries, and Biotechnology), nell'ambito del progetto REFERTIL (c.n. 289785).

### **Lavori citati**

GAGLIARDI J.V., KARNS J.S. (2002) – Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on plant root. Environmental Microbiology, 4(2), 89-86