

Caratteristiche microbiologiche e parassitologiche di due specie di insetti (*Tenebrio molitor* e *Acheta domestica*) impiegate per il consumo umano

Branciarri R., Cioffi A., Miraglia D., Ranucci D., Principato M., Vizzani A.

Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari, Università di Perugia - Via S. Costanzo 4 - 06126 Perugia

Summary: Per molte popolazioni non Europee gli insetti e gli aracnidi sono componenti della dieta e, in alcuni casi per gli strati più disagiati, risultano essere un'economica fonte proteica. In diverse culture ed etnie gli insetti sono considerati un prodotto tipico o addirittura una leccornia. In Europa, l'incontro tra culture diverse conseguente al crescente sviluppo di una società multietnica ha aperto le porte a nuove fonti alimentari non convenzionali tra cui anche gli insetti. Tuttavia, scarsi sono i dati riguardanti le caratteristiche igienico-sanitarie di artropodi terrestri destinati al consumo umano. A tal fine sono state condotte indagini microbiologiche e parassitologiche su campioni di forme larvali di *Tenebrio molitor* (*Coleoptera: Tenebrionidae*) ed esemplari adulti di *Acheta domestica* (*Orthoptera: Gryllidae*), specie tra le più comunemente utilizzate come insetti edibili.

Key words: entomophagy, insect, microbiology, parasitology.

INTRODUZIONE

Gli insetti sono considerati, nei Paesi occidentali, come ospiti indesiderati all'interno della filiera agroalimentare e ipotizzarli come fonte alimentare umana può suscitare, nella maggior parte dei casi, reazioni avverse. In altre culture, invece, gli insetti edibili costituiscono un alimento consueto se non addirittura una leccornia (1) e in alcuni Paesi rappresentano una fonte alternativa di proteine. A tal proposito, è stato recentemente pubblicato un Documento della FAO in cui si invitano le popolazioni più povere a considerare gli insetti commestibili, soprattutto le forme larvali, un'alternativa nell'ambito degli sforzi tesi ad aumentare la sicurezza alimentare nei Paesi dell'Africa Centrale (2). Gli insetti infatti hanno un elevato valore energetico e una quantità di proteine e grassi sovrapponibile, se non superiore, a quella del manzo e del pesce (3). Per ogni 100 grammi di bruchi essiccati, ci sono circa $63,5 \pm 9$ g di proteine, circa $15,7 \pm 6,3$ g di grassi e il loro valore energetico è intorno alle 457 ± 32 kcalorie (4). Tra l'altro molti abitanti dell'Africa Centrale, utilizzano già questa importante risorsa di cibo: circa l'85% dei partecipanti a un sondaggio nella Repubblica del Centro Africa consuma bruchi, il 70% nella Repubblica Democratica del Congo ed il 91% in Botswana.

Nonostante l'avversione che manifestano la maggior parte delle persone verso questa tipologia di alimento, l'entomofagia è un fenomeno che inizia a prendere piede anche nei paesi occidentali dove in realtà, in tempi antichi, era molto diffuso ed apprezzato. Aristotele, non disdegnava un buon piatto

di cicale arrosto, e spingeva anzi il suo entusiasmo fino a consigliarne il consumo prima della muta, quando il sapore è più prelibato. Gli stessi romani, nei tempi antichi, gustavano la larva di un lepidottero notturno, il *Cossus cossus*, con cui, secondo Plinio, si confezionavano delicatissime pietanze (5). In tempi più recenti il baco da seta (*Bombyx mori*), estratto dal bozzolo, veniva gettato direttamente nell'acqua bollente e utilizzato come fonte di sostentamento per le lavoratrici (6).

In alcuni Paesi, compresa l'Italia, sono presenti ristoranti specializzati nella preparazione degli insetti e sono altresì disponibili alcuni prodotti a base di insetti in negozi di specialità alimentari e via internet. Scarse sono tuttavia le notizie relative alla presenza di microrganismi patogeni e parassiti, in grado di causare problemi sanitari all'uomo, in tali prodotti e nella materia prima da cui derivano. Scopo di questo lavoro è stato quello di effettuare delle indagini preliminari sulle caratteristiche microbiologiche e parassitologiche di due specie di insetti tra le più rappresentative nel panorama degli artropodi edibili. Questo al fine di iniziare ad identificare eventuali pericoli biologici presenti, per poter valutare in un prossimo futuro il rischio sanitario legato al consumo di questi alimenti.

MATERIALI E METODI

Le analisi sono state condotte su due specie di insetti: forme larvali di *Tenebrio molitor* (Coleoptera: *Tenebrionidae*) dette anche "Tarme della farina" ed esemplari adulti di *Acheta domestica* (Orthoptera: *Gryllidae*), il comune grillo domestico. Entrambe le specie sono state acquistate presso un allevatore locale la cui prospettiva è quella di produrre insetti per il consumo umano. A tal proposito, gli insetti vengono allevati in vasche periodicamente disinfettate durante il ciclo di produzione, alimentati con mangimi vegetali senza l'utilizzo di ormoni ed antibiotici.

Da sei diversi cicli di produzione si è provveduto ad effettuare prelievi di insetti delle due specie sopra menzionate sulle quali sono state effettuate analisi microbiologiche e parassitologiche. I campioni, una volta pervenuti in laboratorio, sono stati congelati a -80°C ed entro 24h esaminati con le seguenti metodiche analitiche: semina su Plate Count Agar (PCA Oxoid) per Carica Microbica Totale e incubazione a 37°C per 48 ore; semina su Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG Oxoid) per la conta degli enterobatteri totali e incubazione a 37°C per 24 ore; semina su Baird-Parker + EGG (Oxoid) per la determinazione di *Staphylococcus aureus* e incubazione a 37°C per 48 ore. Le colonie sospette sono state sottoposte a test biochimici mediante l'impiego di API20 STAPH (Biomerieux); per la valutazione della presenza di *Salmonella spp.* è stato effettuato un prearricchimento mediante diluizione di 25 gr di campione in 225 ml di H₂O peptonata tamponata e incubato a 37°C per 18 ore. Successivamente, 0,1 ml di brodocoltura è stato inoculato in 10 ml di brodo Rappaport-Vassiliadis con incubazione a 42°C per 24 ore. Al termine dell'arricchimento un'ansata di brodocoltura è stata seminata su XLD (Oxoid) e la piastra incubata a 37°C per 24 ore. Le colonie di *Salmonella spp.* sospette sono state

sottoposte a test supplementari (ureasi, semina in Kliger) e tipizzazione sierologica; per la valutazione della presenza di *Listeria monocytogenes* è stato effettuato un prearricchimento mediante diluizione di 25 gr. di campione in 225 ml di Half Fraser Broth (Oxoid) e incubazione a 30°C per 48 ore. Successivamente, 0,1 ml di brodocoltura è stato inoculato in 10 ml di Fraser Broth (Oxoid) con incubazione a 37°C per 24 ore. Al termine dell'arricchimento un'ansata di brodocoltura è stata seminata su Oxford Agar (Oxoid) e la piastra incubata a 37°C per 48 ore. Le colonie sospette sono state sottoposte a test biochimici supplementari.

Per quanto riguarda gli esami parassitologici, è stata effettuata la ricerca di artropodi parassiti e/o infestanti su tre pool di 100 esemplari di *Acheta domestica* allo stadio di adulto e di *Tenebrio molitor*, allo stadio di larva III tutti preventivamente congelati a -80°C insieme ai rispettivi substrati di sviluppo. Sugli insetti è stato eseguito sia un esame microscopico diretto della cuticola, sia il loro lavaggio con etanolo al 90%. Il sedimento alcolico, opportunamente filtrato su reticolo a maglie di 2mm, è stato quindi osservato allo stereomicroscopio per la ricerca di eventuali parassiti. La lettiera di allevamento è stata, invece, lavata con una soluzione satura di NaCl, e, dopo filtrazione, ne è stato osservato il flottato allo stereomicroscopio. I parassiti osservati sono stati prelevati attraverso aghi a punta piatta e posti a chiarificare in acido lattico. Da qui, dopo 72 ore, sono stati trasferiti su vetrino nella soluzione di Berlese e identificati al microscopio ottico in contrasto di fase.

RISULTATI

I risultati relativi alle indagini microbiologiche condotte sulle due specie di insetti considerate, sono illustrati nella Tabella 1 e 2.

Tabella 1. Valori (Log ufc/g) di CMT ed enterobatteri in larve di *Tenebrio molitor*.

	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	Ciclo 5	Ciclo 6
CMT	7,61	8,01	7,85	7,68	7,93	7,36
Enterobatteri	7,36	7,26	6,89	6,60	7,13	6,32

Tabella 2. Valori (Log ufc/g) di CMT ed enterobatteri in *Acheta domestica*

	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	Ciclo 5	Ciclo 6
CMT	8,00	7,77	8,03	7,69	7,93	7,36
Enterobatteri	7,19	6,61	7,57	7,67	6,90	6,46

La carica microbica totale non è mai stata inferiore a 7 Log ufc/g mentre la numerazione degli enterobatteri è risultata sempre superiore a 6 Log ufc/g. La conta di *Staphylococcus aureus* è risultata negativa in tutti i campioni

esaminati. Per quanto riguarda gli altri patogeni presi in considerazione non è stata riscontrata la presenza di *Listeria monocytogenes* mentre, un unico campione di *Acheta domestica*, è risultato positivo per *Salmonella spp.* il cui sierotipo è in via di tipizzazione.

L'esame parassitologico degli insetti ha consentito di isolare acari infestanti. Sulla cuticola delle articolazioni coxo-femorali di *Acheta domestica* sono state isolate deutoninfe ipopiali (ipopi) di *Sancassania berlesei* Oudemans, 1916 (= *Caloglyphus* Berlese, 1923) (*Acaridae*) i cui adulti sono stati rinvenuti anche nel substrato di allevamento. Sulla cuticola di *Tenebrio molitor*, invece, non è stato rilevato alcun artropode, ma la lettiera di sviluppo presentava stadi ninfali di *Dermatophagoides farinae* (Hughes, 1961) (*Pyroglyphidae*) e di *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank, 1781) (*Acaridae*). Solo nel substrato del terzo pool di *Tenebrio molitor* abbiamo rilevato una esuvia ipopiale di *Lepidoglyphus destructor* (Schrank, 1781) (= *Acarus spinipes* C.L.Koch, 1841) (*Glycyphagidae*).

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Per quanto riguarda CMT ed enterobatteri i valori rilevati sono risultati piuttosto elevati. Bisogna comunque tenere in considerazione che in questa fase della sperimentazione si è proceduto ad analizzare campioni prelevati direttamente in allevamento senza che siano stati sottoposti ad alcun tipo di procedura atta a migliorarne il livello igienico. Nonostante ciò, l'isolamento di microrganismi patogeni è risultato negativo ad eccezione di un campione in cui è stata riscontrata la presenza di *Salmonella spp.* Tale evenienza non è comunque infrequente nella materia prima di altri prodotti di origine animale (7, 8). Tuttavia il sierotipo isolato, in via di identificazione, non rientra sicuramente tra quelli di più frequente riscontro negli alimenti comunemente consumati e resta quindi da definire l'origine e il significato che tale microrganismo può avere in questa tipologia di alimento.

Per quanto riguarda i risultati ottenuti dai rilievi parassitologici effettuati, dobbiamo sottolineare la reale possibilità di colonizzazione di questi allevamenti entomologici da parte di acari ambientali. L'unico ad essere rinvenuto a livello cuticolare è stato *Sancassania berlesei*, allo stadio deutoninfale. Questa specie, infatti, utilizza vari artropodi come ospiti foretici, restando quiescente sotto forma di ipope. Tale stadio, assolutamente facoltativo e innocuo per l'uomo, si deve considerare una forma di resistenza che consente all'acaro di sopravvivere anche in condizioni avverse. La presenza, invece, di altre specie di acari ambientali allo stadio ninfale, nella lettiera di *T. molitor*, è indice di una contaminazione esterna e recente, che non evolve probabilmente a causa del continuo ricambio degli insetti e della frequente pulizia dell'allevamento. E' da notare, però, che *D. farinae*, è un acaro patogeno le cui deiezioni, larvali e ninfali, provocano asma bronchiale nell'uomo e *L. destructor* è un acaro importante sotto il profilo sanitario, in quanto le sue setole urticanti sono in grado di causare gravi dermatiti. Questi artropodi, però, sono strettamente ambientali e non

invadono mai il corpo dell'insetto di cui vogliamo cibarci, a meno che non sia già morto.

E' parimenti importante anche la scelta delle specie da utilizzare come cibo in quanto non tutti gli insetti possono essere mangiati senza rischio. Tra quelli Italiani, per esempio, dobbiamo ricordare che mentre i bruchi di *Cossidae*, come il *Cossus cossus*, sono commestibili, quelli dei *Zygenidae* (es. *Zygaena*) sono molto velenosi in quanto contengono cianuro; altri come la *Cerura vinula* (*Notodontidae*) emettono acido formico oppure, come il più noto papilionide del nostro Paese, il *Papilio machaon*, sostanze maleodoranti; altri ancora, come le comuni processionarie, *Thaumetopoea processionea* e *T. pityocampa*, se ingerite, provocano problemi sanitari gravissimi.

Quindi, la scelta delle specie di insetti da utilizzare deve essere fatta con oculatezza, facendo molta attenzione anche alla loro provenienza ed alle condizioni igieniche con cui sono stati allevati. Inoltre è consigliabile, nell'eventuale utilizzo degli insetti come cibo, sia il loro lavaggio accurato e ripetuto, volto a rimuovere eventuali residui di acari patogeni e ridurre la contaminazione batterica superficiale, sia la loro freschezza, elemento indispensabile per evitare contaminazioni da artropodi parassiti e da germi patogeni e alteranti. Comunque, il rischio legato a questa fonte alimentare, come per altri cibi convenzionali, è ridotto a livelli accettabili solo dopo opportuno trattamento termico. Ulteriori studi dovranno essere effettuati per codificare norme e comportamenti da adottare lungo tutta la filiera produttiva al fine di raggiungere adeguati standard igienico-sanitari anche per tale alimento.

BIBLIOGRAFIA

1. De Foliart, G.R. (1992) - Insects as human food. *Crop Protection* 5 (11), 395-399.
2. FAO (2004) - Contribution des insectes de la foret à la sécurité alimentaire. FAO, Rome.
3. Cedra, H., Martinez, R., Briceno, N., Pizzoferrato, L., Hermoso, H., Paletti, M., (1999) – Rearing, nutritional composition, and sensorial analysis of the *Rhyncophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) palm weevil as a food eaten by amazonian indians. *Ecotropicos*, 12 (1), 25-32.
4. Vantomme, P., Göhler, D., N'deckere-Ziangba, F. (2004) - Contribution of forest insects to food security and forest conservation: The example of caterpillars in Central Africa. ODI Wildlife Policy Briefing n° 3. [Http://www.odi-bushmeat.org/wildlife_policy_briefs.htm](http://www.odi-bushmeat.org/wildlife_policy_briefs.htm).
5. Bargagli P., (1877) – Insetti commestibili. Ed. Tipografia della Gazzetta d'Italia. Firenze.
6. Holt V.M., (1978) – Why not eat insects? Ed. E.W. Classey LTD, Faringdon, Oxon, UK.
7. Uyttendaele, M.R., Debevere, J.M., Lips, R.M., Neyts, K.D., (1998) – Prevalence of *Salmonella* in poultry carcasses and their products. *Int. J. Food Microbiol.* 40, 1–8.
8. Swannenburg, M., Urlings, H.A.P., Snijders, J.M.A., Keuzenkamp, D.A., van Knapen, F., (2001) – *Salmonella* in slaughter pig: prevalence, serotype and critical control point during slaughter in two slaughterhouses. *Int. J. Food Microbiol.* 70, 243-254.