



Associazione Italiana Veterinari Igienisti

# La gestione della sicurezza alimentare e i controlli ufficiali: nuovi approcci e tendenze in ambito nazionale e comunitario

ABSTRACT BOOK

XXVI Congresso Nazionale



14 – 16 settembre 2016

Isola di Salina (Isole Eolie – Messina)



**AIVI**  
Associazione  
Italiana  
Veterinari  
Igienisti

# La gestione della sicurezza alimentare e i controlli ufficiali: nuovi approcci e tendenze in ambito nazionale e comunitario

## Presidente

Enrico Pietro Luigi De Santis, *Università degli Studi di Sassari, Italy*

## Vicepresidente

Roberto Macrì, *Servizio Veterinario Regione Calabria, Italy*

## Segretario

Christian Scarano, *Università degli Studi di Sassari, Italy*

## Comitato scientifico

Aniello Anastasio, *Università degli Studi di Napoli Federico II, Italy*

Teresa Bossù, *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Italy*

Enrico Pietro Luigi De Santis, *Università degli Studi di Sassari, Italy*

Gaetano Celano, *Università degli Studi di Bari, Italy*

Beniamino Terzo Cenci Goga, *Università degli Studi di Perugia, Italy*

Luca Cianti, *Servizio Veterinario Azienda Sanitaria Locale di Firenze, Italy*

Daniela Gianfaldoni, *Università degli Studi di Pisa, Italy*

Alessandro Giuffrida, *Università degli Studi di Messina, Italy*

Adriana Ianieri, *Università degli Studi di Parma, Italy*

Anna Rita Loschi, *Università degli Studi di Camerino, Italy*

Domenico Mollica, *Servizio Veterinario Azienda Sanitaria Locale di Sorrento, Italy*

Enrico Novelli, *Università degli Studi di Padova, Italy*

Giuseppe Palma, *Assoittica, Italy*

Marilia Tantillo, *Università degli Studi di Bari, Italy*

Sebastiano Virgilio, *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Italy*

Antonio Panebianco, *Università degli Studi di Messina, Italy*

Maria Luisa Cortesi, *Università degli Studi di Napoli Federico II, Italy*

Roberto Rosmini, *Alma Mater Studiorum - Università degli Studi di Bologna, Italy*

Tiziana Civera, *Università degli Studi di Torino, Italy*

## Revisori dei conti

Alessandra Guidi, *Università degli Studi di Pisa, Italy*

Sandro Fichera, *ASUR Marche, Italy*

Raffaele Marrone, *Università degli Studi di Napoli Federico II, Italy*

## Collegio dei probiviri

Stefano Bilei, *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Italy*

Maria Teresa Bottero, *Università degli Studi di Torino, Italy*

Giovanni Munaò, *Servizio Veterinario Azienda Sanitaria Locale di Firenze, Italy*

## Delegati regionali

**Abruzzo:** Alberto Vergara

**Calabria:** Raffaele Grillone, Roberto Macrì

**Campania:** Maria Luisa Cortesi, Domenico Mollica

**Lombardia:** Claudia Balzaretto, Lisa Vallone

**Piemonte:** Claudio Biglia, Tiziana Civera, Lucia Decastelli

**Emilia Romagna:** Franco Brindani, Gaetano Liuzzo, Antonio Poeta, Roberto Rosmini

**Marche:** Loredana Di Giacomo, Annarita Loschi

**Toscana:** Luca Cianti, Daniela Gianfaldoni, Giovanni Munaò

**Umbria:** Beniamino Terzo Genci Goga

**Molise:** Giampaolo Colavita

**Sardegna:** Enrico Pietro Luigi De Santis, Pier Luigi Piras, Sebastiano Virgilio

**Lazio:** Francesco Leone, Giuseppe Palma

**Puglia:** Leonardo Carosielli, Gaetano Celano

**Sicilia:** Alessandro Giuffrida, Antonio Giuliano, Giuseppe Barbera



**AIVI**  
Associazione  
Italiana  
Veterinari  
Igienisti

# La gestione della sicurezza alimentare e i controlli ufficiali: nuovi approcci e tendenze in ambito nazionale e comunitario

## COMITATO ORGANIZZATORE

Antonio Panebianco, *Università degli Studi di Messina, Italy*

Alessandro Giuffrida, *Università degli Studi di Messina, Italy*

Graziella Ziino, *Università degli Studi di Messina, Italy*

Filippo Giarratana, *Università degli Studi di Messina, Italy*

Giorgio Donato, *RiConnexIA, Spinoff Università degli Studi di Messina, Italy*

Non-commercial use only

Associazione Italiana Veterinari Igienisti  
**XXVI Congresso Nazionale**

14 – 16 settembre 2016

Isola di Salina (Isole Eolie – Messina)



**Mercoledì 14 settembre 2016**

8.30 Apertura segreteria

8.45 Saluto delle Autorità

9.15 Inizio lavori

**9.15 – 12.00 Tavola Rotonda**  
**Norme cogenti e standard volontari:**  
**confronti e prospettive**

**Moderatori: Enrico Pietro Luigi De Santis, Antonio Panebianco**

Audit ufficiali in aziende soggette a sistemi di certificazione volontaria: esperienze sul campo  
*Emanuele Guidi, Dirigente AUSL di Modena*

I sistemi volontari di gestione della sicurezza alimentare  
*Emanuele Callipo, Lead Auditor DNV*

10.30 Coffee break

Il ruolo della grande distribuzione organizzata nella definizione degli standard di sicurezza alimentare per i fornitori  
*Rosanna Casciano, Controllo Qualità CONAD*

Applicazione delle norme cogenti e degli standard volontari: il punto di vista dell'industria alimentare  
*Domenico Viola, Responsabile Qualità OPAS Cooperativa Agricola*

12.00 Discussione

13.15 Pausa pranzo

**15.00 – 16.30 Comunicazioni scientifiche**  
**(Filiera prodotti della pesca - prima sessione)**

**Moderatori: Tiziana Civera, Aniello Anastasio**

**C001** Presenza di *Anisakis* spp. (Nematoda: Anisakidae) in pesci atlantici e mediterranei commercializzati in Sardegna  
*Daniele Casti, Christian Scarano, Maria Cristina Piras, Paolo Merella, Sonia Muglia, Francesca Piras, Giovanni Garippa, Carlo Spanu, Enrico Pietro Luigi De Santis*

**C002** Studio della prevalenza di larve di *Eustrongylides* spp. nel pescato del lago Trasimeno

*Raffaella Branciarì, David Ranucci, Dino Miraglia, Andrea Valiani, Fabrizia Veronesi, Eleonora Urbani, Giovanni Lo Vaglio, Raffaella Franceschini*

**C003** Abstract non presentato

**C004** Valutazione delle modalità di commercializzazione e detenzione di crostacei vivi (astici americani) ai fini della vendita come alimenti: prime valutazioni sul territorio piemontese  
*Bartolomeo Griglio, Giuseppe Sattanino, Daniele Pattono, Elisa D'Agui, Marta Fidelio, Tiziana Civera*

**C005** Analisi delle norme contenute nei regolamenti comunali vigenti in Italia sul benessere dei crostacei  
*Gaetano Liuzzo, Roberto Rossi, Federica Giacometti, Silvia Piva, Andrea Serraino*

**C006** Primo studio pluriennale retrospettivo sulla prevalenza di *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus* nelle vongole veraci (*Ruditapes philippinarum*), in relazione alle condizioni ambientali nell'area di produzione della Sacca di Goro, Italia  
*Patrizia Serratore, Fabio Ostanello, Pier Luca Passalacqua, Emanuele Zavatta, Giorgia Bignami, Andrea Serraino, Federica Giacometti*

**16.30 – 18.00 Comunicazioni scientifiche**  
**(Filiera prodotti della pesca - seconda sessione)**

**Moderatori: Cristian Bernardi, Sebastiano Virgilio**

**C007** Presenza di specie microalgali potenzialmente tossiche in acque di allevamento in relazione ad eventi di tossicità in molluschi bivalvi allevati in Sardegna  
*Anna Maria Bazzoni, Alessandro Graziano Mudadu, Giuseppa Lorenzoni, Igor Arras, Antonella Lugliè, Barbara Vivaldi, Valentina Cicotelli, Giovanna Sanna, Giuseppe Tedde, Salvatore Ledda, Enrico Alessio, Edoardo Marongiu, Sebastiano Virgilio*

**C008** Effetto di un estratto fenolico da acque di vegetazione di olive sulla qualità di tranci di salmone fresco durante la conservazione  
*Dino Miraglia, Sonia Esposito, Raffaella Branciarì, Stefania Urbani, Maurizio Servili, Simona Perucci, David Ranucci*

**C009** Formulazione e valutazione della shelf-life di hamburger di pesce destinati a bambini in età prescolare  
*Giorgio Smaldone, Raffaele Marrone, Tiziana Zottola, Lucia Vollano, Giulio Grossi, Maria Luisa Cortesi*

**La gestione della sicurezza alimentare e i controlli ufficiali:  
nuovi approcci e tendenze in ambito nazionale e comunitario**

Isola di Salina (Isole Eolie – Messina) 14–16 settembre 2016

- C010** Nuovo approccio per la predizione della *shelf-life* di filetti di pesce in presenza di sostanze antimicrobiche naturali  
Alessandro Giuffrida, Filippo Giarratana, Davide Valenti, Daniele Muscolino, Roberta Parisi, Alessio Parco, Stefania Marotta, Graziella Ziino, Antonio Panebianco
- C011** Analisi del genoma mitocondriale di alcune specie di Sparidi: risultati preliminari  
Celestina Mascolo, Marina Ceruso, Paolo Sordino, Giuseppe Palma, Aniello Anastasio, Tiziana Pepe
- 19.30 Cocktail di benvenuto presso il RapaNui Resort (S. Marina di Salina)

## Giovedì 15 settembre 2016

### 9.00 – 12.30 Tavola Rotonda Il controllo ufficiale nel contesto europeo: innovazioni e modelli a confronto

**Moderatori:** Maria Luisa Cortesi, Calogero Di Bella

Il nuovo Regolamento UE sul controllo ufficiale degli alimenti  
Andrea Gavinelli, Direzione Generale Salute e Sicurezza Alimentare, Commissione Europea, DG SANTE

Il controllo ufficiale sulla filiera delle carni: il modello organizzativo in Gran Bretagna  
Jason Aldiss, Eville & Jones (GB)

Il controllo ufficiale degli alimenti nel contesto europeo: l'opinione dell'Unione Europea dei veterinari igienisti (UEVH)  
Maurizio Ferri, Vicepresidente UEVH

10.45 Coffee break

Garanzie di sanità animale per il commercio internazionale: prospettive future  
Sivlio Borrello, Direzione generale della sanità animale e dei farmaci veterinari, Ministero della Salute

Organizzazione e strategie del controllo ufficiale sugli alimenti di origine animale in Italia  
Giovanni Granitto, Direzione generale per l'igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione, Ministero della Salute

*Interventi programmati*

- Antonio Panebianco (Direttore Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina)
- Vincenzo Chiofalo (Presidente Consorzio di Ricerca Filiera Carni, Messina)

- 12.30 Discussione
- 13.15 Pausa pranzo

### 15.00 – 17.30 Comunicazioni scientifiche (Filiera carne)

**Moderatori:** Adriana Ianieri, Gerardo Manfreda

- C012** Bassa prevalenza di *Salmonella enterica* in bovini macellati in Emilia-Romagna  
Silvia Bonardi, Ilaria Bruini, Rossella Magnani, Nicolò Cannistrà, Franco Brindani
- C013** Studio preliminare per la valutazione dello stress pre-macellazione in un macello avicolo  
Serena Santonicola, Maria Francesca Peruzu, Nicoletta Murru, Maria Luisa Cortesi, Raffaella Mercogliano
- C014** Presenza di anidride solforosa-solfiti in preparazioni di carni fresche commercializzate nel Lazio  
Giuseppe Carrabs, Giorgio Smaldone, Leonardo Carosielli, Maria Grazia Girasole, Marco Iammarino, Eugenio Chiaravalle

**C015** Igiene delle superfici nelle aziende che lavorano la carne in provincia di Trento  
Rosaria Lucchini, Barbara Cardazzo, Enrico Novelli, Anna Dalsasso, Giovanni Farina

**C016** Trasferimento di metodiche analitiche per la determinazione di sulfamidici in mangimi e muscolo su colonne cromatografiche core-shell usando sistemi cromatografici convenzionali  
Antonio Armentano, Simona Summa, Sonia Lo Magro, Pasqualino D'Antini, Carmen Palermo, Marilena Muscarella

**C017** Analisi dei fattori di processo di un insaccato da stagionare per il controllo di *Listeria monocytogenes*  
Enrico Novelli, Lucia Dal Santo, Stefania Balzan, Barbara Cardazzo, Dino Spolaor, Angiolella Lombardi, Lisa Carraro, Luca Fasolato

**C018** Shelf-life microbiologica e chimico-fisica di mortadella di fegato e accettabilità da parte del consumatore  
Erica Tirioni, Simone Stella, Cristian Bernardi, Vittorio Maria Moretti, Carla Bersani, Patrizia Cattaneo

**C019** Abstract non presentato

### 17.30 – 18.30 Comunicazioni scientifiche (Filiera lattiero-casearia)

**Moderatori:** Andrea Serraino, Nicoletta Murru

- C020** Formaggi tradizionali siciliani: valutazione dell'attività inibente dei batteri lattici versus *Listeria monocytogenes* in caseificazioni sperimentali  
Maria Luisa Scatassa, Raimondo Gaglio, Cinzia Cardamone, Giusi Macaluso, Luigi Arcuri, Massimo Todaro, Isabella Mancuso
- C021** Definizione di un processo di produzione di formaggio e di ricotta a base di latte crudo di pecora senza lattosio  
Luisa Pulinas, Carlo Spanu, Ilenia Idda, Ignazio Ibba, Salvatore Viridis, Christian Scarano, Francesca Piras, Nadia Spano, Gavino Sanna, Enrico Pietro Luigi De Santis
- C022** Produzioni artigianali e sicurezza alimentare: le agrigelaterie  
Irene Aimone Giggio, Marco Ortoffi, Daniele M. Nucera, Sara Lomonaco, Patrizia Morra, Maria Ausilia Grassi

- C023** Caratterizzazione della proteasi termostabile AprX in ceppi di *Pseudomonas fluorescens* e impatto sulla shelf-life dei prodotti lattiero-caseari: risultati preliminari  
Nadia Andrea Andreani, Lisa Carraro, Luca Fasolato, Stefania Balzan, Rosaria Lucchini, Enrico Novelli, Barbara Cardazzo

## Venerdì 16 settembre 2016

### 9.30 - 11.00 Comunicazioni scientifiche (Argomenti vari - prima sessione)

Moderatori: Franco Brindani, Stefano Bilei

- C024** Valutazione dell'attività inibente di oli essenziali di bergamotto su *Listeria monocytogenes*  
Stefania M. Marotta, Filippo Giarratana, Alessio Parco, Domenico Neri, Graziella Ziino, Alessandro Giuffrida, Antonio Panebianco
- C025** Abstract non presentato
- C026** Screening per la ricerca di batteri lattici in grado di utilizzare gli ossalati  
Nicoletta Murru, Giuseppe Blaiotta, Maria Francesca Peruzi, Serena Santonocola, Raffaella Mercogliano, Maria Aponte
- C027** Valutazione del rischio nel recupero di alimenti ai fini caritativi: dati preliminari  
Vesna Milicevic, Giampaolo Colavita, Marta Castrica, Sabrina Ratti, Antonella Baldi, Claudia M. Balzaretto

### 11.00 - 12.30 Comunicazioni scientifiche (Argomenti vari - seconda sessione)

Moderatori: Enrico Novelli, Teresa Bossù

- C028** Valutazione della presenza e concentrazione di acrilamide in alimenti somministrati attraverso distributori automatici  
Naceur Haouet, Simona Pistolese, Raffaella Branciaro, David Ranucci, Serena Altissimi
- C029** Presenza di pesticidi ed inquinanti organici persistenti in mieli biologici italiani di diverse aree produttive in relazione alla potenziale fonte di inquinamento  
Luca Maria Chiesa, Sara Panserì, Giuseppe Federico Labella, Francesco Arioli
- C030** Il consumatore e la scelta del prodotto locale: il caso del Distretto Rurale Riso e Rane  
Giovanni Ferrazzi, Vera Ventura, Sabrina Ratti, Claudia Balzaretto
- C032** Genuino e naturale: l'opinione dei giovani consumatori  
Stefania Balzan, Luca Fasolato, Barbara Cardazzo, Cristiana Penon, Enrico Novelli

## Sessione POSTER

- P001** Spettroscopia di fluorescenza: uno strumento promettente per differenziare molluschi cefalopodi freschi e decongelati  
Serena Meister, Mario Botta, Chiara Porcaro, Abderrahmane Ait-Kaddour, Marzia Pezzolato, Mohammed Loudiyi, Valeria Cosma, Fabrizio Lazzara, Angelo Ferrari, Elena Bozzetta
- P002** Caso di intossicazione da istamina: sindrome sgombroide da consumo di tonno (*Thunnus albacares*) fresco  
Clara Ippolito, Sandra Fragassi, Daniela Manila Bianchi, Silvia Gallina, Marilena Gili, Lucia Decastelli
- P003** Indagine sulla presenza di agenti infettivi virali in prodotti della pesca mediante l'applicazione di saggi molecolari in reazione a catena della polimerasi in tempo reale  
Riccardo Bazzardi, Maria Caterina Fattaccio, Monica Rosaria Molotzu, Laura Marongiu, Antonella Canu, Alfonsina Marras, Edoardo Marongiu, Margherita Pisanu
- P004** Döner Kebab: preparazione di carne o prodotto a base di carne? Valutazione sull'utilizzo di additivi  
Gaetano Liuzzo, Roberto Rossi, Federica Giacometti, Andrea Serraino, Gianfranco Militerno
- P005** Studio del livello di contaminazione ambientale da *Listeria* spp. in salumifici della Sardegna  
Carlo Pala, Carlo Spanu, Daniele Casti, Maria Paola Serra, Maria Cocco, Lelio Carta, Anna Maria Mocchi, Vincenzo Spanu, Francesca Piras, Christian Scarano, Enrico Pietro Luigi De Santis
- P006** *Yersinia enterocolitica* nella filiera suinicola: sviluppo di metodologie molecolari per la valutazione del rischio microbiologico  
Elisabetta Delibato, Stefano Bilei, Pasqualina Terlizzi, Eleonora Pucci, Federico Capuano, Barbara Bertasi, Guido Finazzi, Sarah Lovari, Marina Nadia Losio, Dario De Medici, Yolande Thérèse Proroga
- P007** *Escherichia coli* produttori di tossine di Shiga nella filiera suina  
Roberta Taddei, Lia Bardasi, Ilaria Fiocchi, Maria Francesca Pelliconi, Elena Toschi, Giuseppe Meriardi
- P008** Rilevazione di soia non dichiarata in preparazioni di carne: metodiche immunostochimica e immunoenzimatica a confronto  
Serena Meister, Silvia Gallina, Katia Varello, Marzia Pezzolato, Danila Raffaella Francese, Sandra Fragassi, Daniela Manila Bianchi, Lucia Decastelli, Elena Bozzetta
- P009** Criticità nell'analisi di aflatoxina B1 in mangimi per animali in lattazione contaminati al limite di legge  
Sonia Lo Magro, Antonio Armentano, Simona Summa, Giovanni Muscarella, Donatella Nardiello, Marilena Muscarella
- P010** Caratteristiche microbiologiche di un formaggio a pasta filata da latte crudo ovino confezionato sottovuoto  
Giuliano Palocci, Carmela Tripaldi, Nicla Marri, Daniela Patriarca, Patrizia Pietrini, Carlo Boselli, Gilberto Giangolini, Simonetta Amatise
- P011** Poster non presentato

**P012** Microflora lattica caratteristica di formaggi sottoposti a processi di fusione

*Daniele M. Nucera, Marco Ortoffi, Patrizia Morra, Maria Ausilia Grassi*

**P013** Caratterizzazione molecolare di ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati da latte e cagliate caprini

*Francesco Chiesa, Marco Rossi, Daniela Dezzutto, Daniele Pattono, Maria Silvia Gennero, Tiziana Civera*

**P014** Un caso di sindrome emolitico-uremica da *Escherichia coli* O26 verocitotossico conseguente al consumo di formaggi tradizionali rumeni

*Paola De Santis, Sarah Lovari, Bianca Maria Varcasia, Laura De Santis, Francesco Tomassetti, Rita Tolli, Fabiola Di Giamberardino, Paola Marconi, Lucia Guazzini, Sara Spagnul, Stefano Morabito, Antonella Maugliani, Paola Chiani, Fabio Minelli, Cinzia Sampieri, Stefano Bilei*

**P015** Caratterizzazione microbiologica di mieli di corbezzolo prodotti e commercializzati in Sardegna

*Tiziana Tedde, Giovanni Terrosu, Maria Teresa Uda, Margherita Pisanu, Edoardo Marongiu, Antonio Fadda, Sebastiano Virgilio*

**P016** L'entomologia forense applicata alla sicurezza alimentare: primi risultati

*Francesco Defilippo, Marco Pinna, Sara Savoldelli, Giuseppe Merialdi, Michele Dottori, Paolo Bonilauri*

**P017** Ricerca di microrganismi potenzialmente patogeni in chiocciole corritrici ed epifragmate in Sardegna

*Sebastiano Virgilio, Margherita Pisanu, Andrea Orrù, Arianna Corda, Stefania Brignardello, Laura Mara, Tiziana Tedde, Igor Arras, Edoardo Marongiu, Paola Cogoni*

**P018** Le autorità competenti: dalla Legge 283/62 ai Regolamenti Comunitari

*Domenico Mollica, Viviana Viola Esposito*

**P019** Studio di applicabilità e messa a punto di metodi in reazione a catena della polimerasi digitale per l'analisi quantitativa diretta di eventi geneticamente modificati

*Maria Giovanna Tilocca, Silvia Dei Giudici, Edoardo Marongiu, Bruna Vodret*

**P020** Piano integrativo di controllo per la ricerca di *Listeria monocytogenes* nelle imprese alimentari: l'attività del Servizio Igiene degli Alimenti di Origine Animale dell'Area Vasta 4 di Fermo

*Loredana Di Giacomo, Antonio Angellotti, Aldo Annibaldi, Giuliana Blasi, Gabriela Ciccaleni, Giuseppe Cupelli, Anna Rita Loschi, Nazzareno Marcantoni, Angeliki Riganatou, Simonetta Ruggeri, Ezio Ferretti*

**P021** Studio del potenziale invasivo di ceppi di *Listeria monocytogenes* isolati da alimenti pronti al consumo reperibili in commercio

*Vincenzo Spanu, Carlo Spanu, Francesca Cossu, Daniele Casti, Carlo Pala, Erica Mura, Silvia Deidda, Sonia Lamon, Michela Ibba, Christian Scarano, Andrea Piana, Enrico Pietro Luigi De Santis*

**P022** Pizze *gluten-free*: indagine in pizzerie da asporto nella provincia di Torino

*Clara Ippolito, Sandra Fragassi, Andrea Palma, Maria Caramelli, Daniela Manila Bianchi, Lucia Decastelli*

**P023** Ristorazione etnica e sicurezza alimentare: recepimento ed applicazione delle norme vigenti

*Francesco Chiesa, Daniele M. Nucera, Marco Ortoffi, Patrizia Morra, Stefano Storerò, Maria Ausilia Grassi*

**P024** Standard per la valutazione delle *performances* dei terreni utilizzati nella microbiologia alimentare: riflessioni

*Selene Marozzi, Stefano Saccares, Teresa Bossù, Stefano Bilei*

**P025** Messa a punto di un protocollo per la valutazione della capacità di formare biofilm da *Listeria monocytogenes* in polimeri destinati all'industria alimentare trattati con mezzi fisici

*Patrizia Centorame, Anna Rita D'Angelo, Federica Di Simone, Romolo Salini, Alessandra Cornacchia, Raffaele Marrone, Aniello Anastasio, Francesco Pomilio*

**P026** Educare il consumatore attraverso i bambini: il laboratorio didattico quale strumento di formazione in sicurezza alimentare e in campo nutrizionale

*Amaranta Traversa, Daniela Adriano, Alberto Bellio, Daniela Manila Bianchi, Silvia Gallina, Clara Ippolito, Angelo Romano, Paola Durelli, Andrea Pezzana, Lucia Decastelli*

## COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

Mercoledì 14 settembre 2016

C001

### Presenza di *Anisakis* spp. (Nematoda: Anisakidae) in pesci atlantici e mediterranei commercializzati in Sardegna

Daniele Casti, Christian Scarano, Maria Cristina Piras, Paolo Merella, Sonia Muglia, Francesca Piras, Giovanni Garippa, Carlo Spanu,\* Enrico Pietro Luigi De Santis

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italy

\*cspanu@uniss.it

Con il termine anisakiasi viene indicata una zoonosi parassitaria causata dall'ingestione accidentale di larve del terzo stadio vive appartenenti al genere *Anisakis*. Lo scopo del presente lavoro è stato studiare il livello di infestazione di *Anisakis* spp. in specie ittiche di provenienza locale (Golfo dell'Asinara) e nord atlantica commercializzate in Sardegna. Nel corso del 2013, 1112 campioni appartenenti a 4 specie di teleostei: 104 *Trachurus mediterraneus*, 750 *Engraulis encrasicolus*, 40 *Scomber colias* pescati nel golfo dell'Asinara e 100 *Merluccius merluccius* di origine atlantica e 118 di origine mediterranea, sono stati esaminati per la ricerca del parassita. Di ciascun esemplare ospite sono stati determinati il peso e la lunghezza totale. Il numero di larve di *Anisakis* presenti nella cavità addominale e nella muscolatura è stato determinato mediante osservazione visiva diretta ed allo stereomicroscopio e digestione enzimatica. Un campione rappresentativo di 50 larve è stato identificato a livello di specie mediante reazione a catena della polimerasi-polimorfismo da lunghezza dei frammenti di restrizione (PCR-RFLP). Nel 39,9% dei pesci sono state rilevate 5866 larve di terzo stadio di *Anisakis* spp., tutte morfologicamente appartenenti al tipo I. Larve di *Anisakis* sono state riscontrate nel 100% di *S. colias*, nel 91% di *M. merluccius* atlantico, nel 71,2% di *M. merluccius* mediterraneo, nel 32,7% di *T. mediterraneus* e nel 25,9% di *E. encrasicolus*. L'intensità media d'infestazione era di 13,2 larve (intervallo di confidenza, 9,9-20,1). Nelle singole specie l'intensità media d'infestazione era rispettivamente di 53,0 in *M. merluccius* atlantico, 9,2 in *S. colias*, 3,0 in *T. mediterraneus*, 2,6 in *M. merluccius* locale, e di 1,7 in *E. encrasicolus*. Nonostante la prevalenza nella muscolatura rispetto a quella nella cavità addominale fosse nettamente inferiore (9,4 vs 37,9%), nell'1,8% degli esemplari ospiti è stata riscontrata la presenza di larve esclusivamente nella muscolatura. I livelli di infestazione in cavità addominale erano significativamente correlati a quelli delle parti edibili esclusivamente nel *M. merluccius* atlantico in cui la prevalenza nella muscolatura era del 76%. Questo dato potrebbe essere legato a fattori come il maggiore tempo trascorso tra cattura e commercializzazione o a differenze tra le due specie di *Anisakis* nella capacità di migrazione delle larve nella muscolatura. L'esclusiva presenza di *A. pegreffii* nei pesci di origine locale e la netta prevalenza (90%) di *A. simplex sensu stricto* in *M. merluccius* atlantico confermano che quest'ultima è la specie prevalente nell'oceano Atlantico, mentre *A. pegreffii* è dominante nel mar Mediterraneo. L'elevata prevalenza di *A. pegreffii* osservata nel pescato di provenienza locale, concorda con i casi documentati in Italia di anisakidiosi causati da larve di questa specie a seguito del consumo di acciughe e sardine, tipicamente usate per le preparazioni a base di pesce crudo mari-

nato. Ai sensi del Reg. 853/2004, i prodotti della pesca manifestamente infestati da parassiti devono essere esclusi dall'immissione sul mercato. Il riscontro di larve nella muscolatura in pesci in cui non è rilevabile l'infestazione nella cavità addominale giustifica l'adozione di procedure atte a devitalizzare le larve di *Anisakis* mediante cottura o abbattimento termico in caso di consumo di preparazioni a base di pesce crudo.

C002

### Studio della prevalenza di larve di *Eustrongylides* spp. nel pescato del lago Trasimeno

Raffaella Branciarri,<sup>1\*</sup> David Ranucci,<sup>1</sup> Dino Miraglia,<sup>1</sup> Andrea Valiani,<sup>2</sup> Fabrizia Veronesi,<sup>1</sup> Eleonora Urbani,<sup>1</sup> Giovanni Lo Vaglio,<sup>3</sup> Raffaella Franceschini<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Perugia; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia; <sup>3</sup>Azienda Unità Sanitaria Locale, Umbria 1, Panicale (PG); <sup>4</sup>Dipartimento di Ingegneria della Sostenibilità, Università Guglielmo Marconi, Roma, Italy

\*raffaella.branciarri@unipg.it

L'infestazione umana sostenuta da parassiti del genere *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophymatoidea) è considerata, a livello globale, una zoonosi ittica emergente assunta attraverso l'ingestione di pesci di acqua dolce crudi o poco cotti. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la prevalenza di nematodi del genere *Eustrongylides* nel pescato del lago Trasimeno attraverso un'estesa indagine parassitologica condotta nel periodo 2014-2015 che ha coinvolto le principali specie ittiche edibili del lago oggetto di studio quali: persico reale (*Perca fluviatilis*, Linnaeus), persico trota (*Micropterus salmoides*, Linnaeus), tinca (*Tinca tinca*, Linnaeus), carpa (*Cyprinus carpio* Linnaeus), carassio (*Carassius auratus*, Linnaeus) e latterino (*Atherina boyeri*, Risso). Non essendo nota la prevalenza delle varie specie dell'areale di pesca, il piano di campionamento è stato predisposto considerando una prevalenza attesa di *Eustrongylides* del 50%, con una precisione assoluta del 5% e un livello di confidenza pari al 95%. Per ogni specie ittica sono stati sottoposti ad ispezione visiva della muscolatura e della cavità addominale un totale di 1536 soggetti (384 soggetti a stagione per 4 stagioni consecutive), ad eccezione del latterino, per il quale il campionamento ha interessato 768 esemplari, in quanto il periodo di cattura di tale specie è limitato alle sole stagioni autunnale ed invernale. Per ciascun esemplare di *Eustrongylides* spp. reperito, si registrava la localizzazione ed il numero, al fine di poter calcolare l'intensità d'infestazione. Larve di *Eustrongylides* spp. sono state identificate a partire da persico reale, persico trota e latterino con prevalenze rispettivamente pari al 6,84, 1,89 e 0,13%. Non è stata riscontrata presenza larvale nelle altre specie ittiche oggetto di indagine. Il confronto statistico è stato svolto considerando la stagione e la specie prendendo in considerazione solo gli esemplari parassitati. Non è stata evidenziata alcuna differenza significativa nella percentuale di riscontro di positività parassitaria nelle differenti stagioni di campionamento, mentre la specie ittica di appartenenza è risultata un fattore in grado di incidere sul tasso di prevalenza. In particolar modo il persico reale è risultata la specie a più alto rischio parassitario rispetto al persico trota con un *odds ratio* di 3,81. L'intensità media di infestazione nell'ambito delle due specie è risultata pari a 1,10 nel persico reale ed 1 nel persico trota. I risultati ottenuti, forniscono dati utili a descrivere la diffusione del fenomeno nei prodotti della pesca del lago Trasimeno e a focalizzare l'attenzione dell'operatore del settore

alimentare relativamente alla gestione del rischio *Eustrongylides*, offrendo opportunità nella realizzazione di strategie di prevenzione e controllo. Ulteriori studi sono necessari per monitorare l'evoluzione dell'infezione nel pescato al fine di limitare la diffusione sia locale che in altre aree di pesca.

## C003

**Abstract non presentato**

## C004

### **Valutazione delle modalità di commercializzazione e detenzione di crostacei vivi (astici americani) ai fini della vendita come alimenti: prime valutazioni sul territorio piemontese**

Bartolomeo Griglio,<sup>1</sup> Giuseppe Sattano,<sup>1</sup> Daniele Pattono,<sup>2</sup> Elisa D'Agui,<sup>2</sup> Marta Fidelio,<sup>2</sup> Tiziana Civera<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Azienda Sanitaria Locale T05; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO), Italy

\*tiziana.civera@unito.it

La diffusa maggiore attenzione per il benessere degli animali, anche quando si tratta di invertebrati, ha indotto associazioni che si occupano di tutela degli animali e singoli cittadini a segnalare ai servizi veterinari o ad altri organismi di controllo il riscontro crostacei, e in modo particolare di astici americani, esposti vivi per la vendita su ghiaccio e/o con chele legate, pratica ritenuta non idonea nel parere del 2007 del Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale (CRENBA). Gli operatori del settore alimentare e le autorità competenti incontrano difficoltà a trasferire le indicazioni alla realtà operativa della rete commerciale (acquisto di nuovi acquari e deprezzamento dei soggetti per aggressività in vasca). Alla luce di queste premesse abbiamo ritenuto opportuno raccogliere informazioni sulla situazione in Piemonte, tramite sopralluoghi e redazione di un questionario: sono così stati raccolti per dieci strutture dati su provenienza e trasporto; condizioni e modalità di conservazione, ivi compresi parametri utili a monitorare le corrette prassi operative considerati nel piano *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP), modalità di consegna, destinazione di soggetti morti, ecc. La specie più commercializzata è l'astice americano pescato in Atlantico nordoccidentale, con tempi di trasporto di massimo 2 giorni; limitata la commercializzazione di aragoste e granciporro (2 realtà). La detenzione degli animali, tranne che in un caso (contatto indiretto su letto di ghiaccio) avviene in vasca, con chele legate e separazione da altre specie (tranne che per una realtà di grande distribuzione organizzata). La separazione per lotto è prevista ma per le modalità di commercializzazione (su ordinazione) può risultare superflua. Tutte le realtà finora visitate hanno procedure specifiche ma non sempre correttamente applicate o riferentesi a normative non disponibili/non applicabili-regolamenti comunali. La *best practice* appartiene ad un'azienda operante in campo nazionale nel settore *catering*, in cui si individua anche la necessità di un *acclimatamento* degli animali dopo l'arrivo. La gestione delle vasche prevede la pulizia da alghe ed il controllo giornaliero di alcuni parametri fisici e chimici (temperatura, nitrati, nitriti ed ammoniaca), mentre per altri parametri il controllo è svolto da ditte esterne di manutenzione delle vasche (ossigenazione, salinità). La manutenzione ordinaria ha una cadenza semestrale salvo interventi su chiamata. Per quanto riguarda la formazione degli operatori, abbiamo constatato come solo due operatori fossero a cono-

scenza delle modalità consigliate dal CRENBA per la soppressione degli astici. I soggetti morti vengono classificati come sottoprodotti Cat. 3 (7 realtà), vendita precotti (2 realtà) ed in una realtà posti in vendita senza cottura. La fotografia preliminare presenta una realtà piuttosto variegata, probabilmente anche in relazione al legame della catena distributiva con un determinato territorio di origine. Tutte le aziende hanno procedure specifiche all'interno del piano HACCP, per lo più correttamente applicate. La formazione del personale necessita essere implementata per 1/3 delle aziende esaminate. Raccogliere contributi pratici con la collaborazione di servizi pubblici e aziende, affiancati dal supporto della ricerca, può contribuire alla raccolta di evidenze e soluzioni operative in grado di indirizzare correttamente gli operatori del settore ed aiutare gli organi di controllo nell'attività di vigilanza.

## C005

### **Analisi delle norme contenute nei regolamenti comunali vigenti in Italia sul benessere dei crostacei**

Gaetano Liuzzo,<sup>1</sup> Roberto Rossi,<sup>1</sup> Federica Giacometti,<sup>2</sup> Silvia Piva,<sup>2</sup> Andrea Serraino<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Azienda Unità Sanitaria Locale di Modena, Distretto di Carpi, Carpi (MO);

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Ozzano dell'Emilia (BO), Italy

\*andrea.serraino@unibo.it

Dall'analisi dei 110 siti web dei comuni capoluogo di provincia, risultano essere 62 (56,36%) i comuni che hanno approvato un regolamento sulla tutela del benessere animale. Primo in ordine cronologico, il comune di Firenze, che ha approvato il suo regolamento nel 1999. Dei 62 regolamenti sul benessere animale censiti sono 46 (74,19%) quelli che comprendono regole che riguardano, a vario titolo, gli animali acquatici e/o i crostacei. Solo 11 dei 46 (23,91%) portano specifiche prescrizioni riguardanti i crostacei e sono i regolamenti dei comuni di: Alessandria, Benevento, Ferrara, Foggia, Genova, Monza, Parma, Reggio Emilia, Roma, Torino e Palermo. Lo schema redazionale seguito nella stesura dei regolamenti è quanto mai vario. Le prescrizioni che riguardano gli animali acquatici e/o i crostacei si collocano in articoli rubricati in modo diverso a seconda dei regolamenti. All'interno degli articoli trovano collocazione le diverse regole che riguardano: le caratteristiche degli acquari (dimensioni, capacità, forma), la gestione degli acquari, il mantenimento (conservazione, esposizione) delle specie acquatiche vive, la macellazione e/o soppressione delle specie acquatiche e/o dei crostacei, la legatura delle chele dei crostacei, la cottura dei crostacei. Le norme comprese nei regolamenti comunali di Monza e Foggia vengono estese nella loro obbligatorietà ai singoli cittadini oltre che alle attività commerciali o di ristorazione. In tutti gli undici regolamenti è comune il divieto di: *conservare ed esporre per la commercializzazione sia all'ingrosso che al dettaglio, nonché per la somministrazione, prodotti della pesca vivi ..., al di fuori di adeguate vasche munite di impianto di ossigenazione e depurazione dell'acqua...* e mantenere i crostacei vivi sul letto di ghiaccio e/o di mantenerli vivi fuori dall'acqua posti in frigorifero. Nei cinque regolamenti che fissano prescrizioni circa la legatura delle chele (Ferrara, Roma, Torino, Alessandria e Benevento), è fatto divieto della legatura permanente. La macellazione e/o soppressione dei crostacei trova controversa disposizione a seconda dei regolamenti che ne prevedono la regolazione: nei comuni di Roma, Alessandria, Torino, Palermo, Benevento e Monza è fatto divieto di procedere alla macellazione negli esercizi di vendita al dettaglio ... *fino alla consegna al consumatore finale*, mentre per il regolamento

del comune di Genova la macellazione nell'esercizio di vendita è ammessa esclusivamente se il locale ha spazi idonei fuori dalla vista di soggetti terzi. Il regolamento del comune di Ferrara prevede che la macellazione possa avvenire: prima della cessione al consumatore finale nel caso di vendita al dettaglio e immediatamente prima della cottura nel caso di esercizi che somministrano alimenti (ristorazione). In ogni caso la macellazione deve essere eseguita da personale formato utilizzando il metodo descritto nel parere del Centro di Referenza Nazionale per il Benessere degli animali di Brescia rilasciato il 29/07/2007. Risulta singolare che negli altri regolamenti non vi sia alcuna indicazione e/o richiamo all'obbligo normativo di procedere con metodi che non provochino dolore, ansia o sofferenza evitabili. I regolamenti dei comuni di Parma, Ferrara, Foggia e Monza stabiliscono il divieto di cucinare e/o bollire i crostacei vivi. Tale divieto, nei regolamenti delle città di Monza, Foggia e Ferrara, viene esteso ai singoli privati cittadini.

## C006

### Primo studio pluriennale retrospettivo sulla prevalenza di *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus* nelle vongole veraci (*Ruditapes philippinarum*), in relazione alle condizioni ambientali nell'area di produzione della Sacca di Goro, Italia

Patrizia Serratore,\* Fabio Ostanello, Pier Luca Passalacqua, Emanuele Zavatta, Giorgia Bignami, Andrea Serraino, Federica Giacometti

Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Ozzano dell'Emilia (BO), Italy

\*patrizia.serratore@unibo.it

Nella filiera dei molluschi bivalvi si riscontra una crescente attenzione della grande distribuzione organizzata al controllo di *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus*, batteri marini responsabili di sindromi gastroenteriche nell'uomo, e nel caso di *V. vulnificus* anche forme setticemiche. Il presente lavoro è basato sullo studio retrospettivo (anni 2007-2015), della prevalenza dei *targets* di interesse in relazione ai parametri ambientali nella Sacca di Goro, una delle aree italiane più interessanti per la produzione di vongole veraci, al fine di individuare l'eventuale sussistenza di condizioni ambientali utili a fornire dati predittivi. Complessivamente sono stati considerati 104 campioni, analizzati nel periodo 2007-2015. La quantificazione di *Vibrio* spp. e la ricerca dei *targets* di interesse è stata effettuata mediante metodo interno, già pubblicato, che prevede isolamento in coltura, esecuzione di test biochimico-funzionali, nonché genotipizzazione mediante tecniche di reazione a catena della polimerasi. Per la conferma dei tratti di specie sono stati utilizzati i marcatori *toxRP* per *V. parahaemolyticus*, *vhA* e *hsp* per *V. vulnificus*. Come determinanti di patogenicità sono stati utilizzati *tdh* e *trh* per *V. parahaemolyticus*, mentre *V. vulnificus* è stato considerato potenzialmente patogeno indipendentemente dal complesso dei *markers* genetici, come raccomandato dalla Organizzazione Mondiale della Sanità e dalla *Food and Agriculture Organization*. I parametri ambientali, temperatura, salinità e ossigeno disciolto, raccolti retrospettivamente dai dati di monitoraggio dell'Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente-Emilia Romagna, sono stati elaborati utilizzando per ciascuno la mediana al fine di individuare il *range* di periodo (mesi caldi: aprile-ottobre,  $T > 16,45^{\circ}\text{C}$ ; mesi freddi: novembre-marzo,  $T < 16,45^{\circ}\text{C}$ ), di salinità ( $< 0 > 27$  psu), e di ossigeno disciolto ( $< 0 > 8,2$  mg/L). L'analisi statistica è stata condotta mediante i test *t-student* e comparando i valori ambientali con l'abbondanza di *Vibrio* spp. (unità formanti

colonie  $\text{g}^{-1}$  espresse come  $\log_{10}$ ), la prevalenza di *V. vulnificus* (totali), e la prevalenza di *V. parahaemolyticus* totali (*toxRP+*) e potenzialmente patogeni (*tdh* e/o *trh+*). Sono stati considerati significativi i valori di  $P < 0,05$ . L'abbondanza di *Vibrio* spp., mediamente pari a  $5,2 \log_{10}$ , non è risultata significativamente diversa in relazione ai parametri ambientali ( $P > 0,05$ ). *V. vulnificus* (totali) e *V. parahaemolyticus* (totali) e potenzialmente patogeni sono risultati positivi rispettivamente nel 11,5, 29,8 e 6,7% dei campioni. La prevalenza di *V. vulnificus* (totali) e *V. parahaemolyticus* (totali) è risultata significativamente maggiore nel periodo caldo ( $P < 0,05$ ), mentre non sono state riscontrate differenze significative in relazione a salinità ed ossigeno disciolto ( $P > 0,05$ ). La nostra indagine rappresenta il primo studio pluriennale retrospettivo svolto in Italia sulla prevalenza di *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* nelle vongole veraci, pertanto non è possibile comparare i risultati con quelli di altri autori. Riguardo ai dati ambientali, unicamente la temperatura dell'acqua  $> 16,45^{\circ}\text{C}$  sembra rappresentare un dato predittivo utile sulla presenza di *V. vulnificus* e *V. parahaemolyticus* (totali).

## C007

### Presenza di specie microalgali potenzialmente tossiche in acque di allevamento in relazione ad eventi di tossicità in molluschi bivalvi allevati in Sardegna

Anna Maria Bazzoni,<sup>1\*</sup> Alessandro Graziano Mudadu,<sup>1</sup> Giuseppa Lorenzoni,<sup>1</sup> Igor Arras,<sup>1</sup> Antonella Lugliè,<sup>2</sup> Barbara Vivaldi,<sup>3</sup> Valentina Cicotelli,<sup>3</sup> Giovanna Sanna,<sup>1</sup> Giuseppe Tedde,<sup>1</sup> Salvatore Ledda,<sup>1</sup> Enrico Alesso,<sup>3</sup> Edoardo Marongiu,<sup>1</sup> Sebastiano Virgilio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Struttura Complessa Igiene degli Alimenti, Sassari; <sup>2</sup>Dipartimento di Architettura, Design e Urbanistica, Università degli Studi di Sassari, Sassari; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, Genova, Italy

\*bazzoni.annamaria@tiscali.it

In Sardegna la molluschicoltura ha avuto da sempre un peso rilevante nell'economia produttiva. A partire dagli anni 2000, nei molluschi bivalvi sono stati ciclicamente riscontrati casi di positività per presenza di tossine algali oltre il limite previsto dalla normativa vigente, che hanno determinato la chiusura temporanea degli allevamenti. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare una possibile correlazione tra presenza di fitoplancton potenzialmente tossico e accumulo di tossine nei molluschi bivalvi in campioni prelevati nell'ambito del programma di controllo dei molluschi bivalvi vivi. La ricerca delle biotossine algali e del fitoplancton potenzialmente tossico è stata condotta da gennaio a maggio 2015 in n. 559 campioni di molluschi bivalvi e in n. 570 campioni di acqua prelevati in acque marine e di transizione adibite alla molluschicoltura lungo le coste della Sardegna, con campionamenti settimanali o bisettimanali. I prelievi sono stati eseguiti nel medesimo periodo nell'ambito del Piano Regionale per il controllo dei molluschi bivalvi. Per lo studio del fitoplancton è stata utilizzata la metodica di Utermöhl; per la ricerca delle biotossine algali sono state impiegate le metodiche ufficiali, che prevedono il saggio biologico (*mouse test* 959.08) per la *paralytic shellfish poisoning* e il metodo di cromatografia liquida-spettrometria di massa per la determinazione delle tossine liposolubili (AOs, DTXs, YTXs, PTXs, AZA). Su un totale di 559 campioni di molluschi bivalvi analizzati, in n. 23 (4%) la concentrazione di tossine appartenenti al gruppo dell'acido okadaico superava il limite di 160  $\mu\text{g}$  AO eq/kg di parte edibile previsto dal Reg. CE 853/2004. I valori di abbondanza di specie appartenenti al genere *Dinophysis* (*D. acuminata*, *D. sacculus*, *D. caudata*, *D. rotundata*) e di *Prorocentrum mexicanum* sono stati responsabili dell'accumulo di tos-

sine del gruppo dell'acido okadaico nei molluschi bivalvi, nel periodo febbraio-aprile, nelle zone acquee di Tortoli e di Orosei. Le positività manifestatesi nello stesso periodo nelle zone acquee di S. Gilla, S. Giovanni, Feraxi e Colostrai (Cagliari) non sono state sostenute dalla contemporanea presenza di *Dinophysis* e *Prorocentrum*, che risultavano tuttavia presenti nei mesi di novembre e dicembre 2014. Non è stata riscontrata una chiara corrispondenza temporale tra l'accumulo di tossine nei molluschi e le abbondanze delle specie algali tossiche produttrici di tossine del gruppo dell'acido okadaico, nelle acque adibite alla molluschicoltura. In alcune zone la presenza di alghe e l'accumulo di tossine nei molluschi erano contemporanei, in altre la presenza delle alghe tossiche risultava precedente all'accumulo. Questa ricerca ha confermato la complessità dello studio dei fenomeni di tossicità, in considerazione del fatto che spesso non si riscontra una evidente relazione tra densità algale e presenza di tossine, risultando quindi difficile prevedere una stagionalità. Per questo motivo è fondamentale assicurare attività di monitoraggio e di controllo continuative che prevedano anche lo studio dei parametri ambientali e l'utilizzo di metodiche innovative (quali l'applicazione di tecniche di biologia molecolare) a supporto e conferma dell'identificazione fenotipica delle specie algali potenzialmente tossiche, al fine di un'efficace prevenzione a tutela della salute dei consumatori.

## C008

### Effetto di un estratto fenolico da acque di vegetazione di olive sulla qualità di tranci di salmone fresco durante la conservazione

Dino Miraglia,<sup>1\*</sup> Sonia Esposto,<sup>2</sup> Raffaella Branciaro,<sup>1</sup> Stefania Urbani,<sup>2</sup> Maurizio Servili,<sup>2</sup> Simona Perucci,<sup>3</sup> David Ranucci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Perugia; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Perugia; <sup>3</sup>Circeo Pesca S.r.l., San Mariano, Corciano (PG), Italy

\*dino.miraglia@unipg.it

Scopo del presente studio è stato quello di valutare l'effetto antimicrobico e antiossidante di un estratto fenolico (EF) da acque di vegetazione di olive su tranci di salmone fresco conservati a 4°C in atmosfera modificata. L'EF impiegato per la sperimentazione conteneva una concentrazione totale di fenoli pari a 666,4 mg/g, rappresentati dai seguenti composti: 63,8 mg/g di 3,4-diidrossifeniletanolo (-DHPEA); 10,0 mg/g di p-idrossifeniletanolo (p-HPEA); 23,0 mg/g di verbascoide; 558,2 mg/g di forma dialdeidica dell'acido decarbossimetil-eleonoico legata al 3,4-DHPEA (3,4-DHPEA-EDA); 11,4 mg/g di forma dialdeidica dell'acido decarbossimetil-eleonoico legata al p-idrossifeniletanolo (p-HPEA-EDA). Per il campionamento sono stati preparati, presso uno stabilimento di trasformazione del pesce situato nella provincia di Perugia, 72 tranci di salmone (*Salmo salar*) allevato fresco. I tranci sono stati divisi in 3 gruppi ed immersi rispettivamente in soluzioni acquose a diverse concentrazioni di EF: 1,5 g/L (gruppo A), 3 g/L (gruppo B), solo soluzione acquosa (gruppo di controllo). Dopo una permanenza di 10 minuti nelle soluzioni alla temperatura ambiente di 12°C, i tranci sono stati scolati, depositati a coppie dentro vaschette di polistirolo e confezionati in atmosfera protettiva composta da 70% anidride carbonica, 25% azoto e 5% ossigeno. Le confezioni, del peso medio di circa 330 g, sono state stoccate in frigorifero domestico per 6 giorni a temperatura di circa 4°C e analizzate, dopo due ore dal confezionamento (T0) e a 3 (T1) e 6 (T2) giorni di conservazione, per le seguenti determinazioni: carica microbica totale; *Enterobacteriaceae*; pH; colore; composizione fenolica;  $\alpha$ -tocoferolo; stato ossidativo; attività antiossidante mediante saggio del 2,2-difenil-1-picrilidrazil. I risul-

tati microbiologici hanno rilevato un livello batterico più basso nel gruppo B rispetto al controllo e al gruppo A, ad ogni intervallo di tempo considerato per carica microbica totale e a partire dal terzo giorno di conservazione per *Enterobacteriaceae*. La determinazione analitica dei composti fenolici sui campioni trattati ha evidenziato percentuali di assorbimento diverse delle singole frazioni presenti nelle soluzioni (3,4-DHPEA: 18,7%; p-HPEA: 14,7%; verbascoide: 9,5%; 3,4-DHPEA-EDA: 4,6%; p-HPEA-EDA: non rinvenuto). Anche l'evoluzione di tali composti durante la conservazione è stata differente. Alla fine della shelf-life, il 3,4-DHPEA è incrementato del 15,5%, il p-HPEA e il verbascoide si sono ridotti del 25,4 e 42,0% rispettivamente, mentre il 3,4-DHPEA-EDA non è stato più rilevato. Considerando la sua maggiore reattività è plausibile che tale molecola sia stata idrolizzata (rilasciando molecole di 3,4-DHPEA che infatti è aumentato) o sia intervenuta in qualità di antiossidante di primo tipo. A tal proposito, le quantità di  $\alpha$ -tocoferolo rilevate il sesto giorno, ancorché diminuite durante la conservazione, sono risultate significativamente maggiori nei campioni del gruppo B, dimostrando una maggiore attività antiossidante di questo gruppo, attività confermata anche dal saggio del DPPH<sup>\*</sup> e dalla valutazione del TBARS. Infine, per quanto riguarda il colore, i gruppi trattati sono risultati più gialli ma solo a T0. I risultati ottenuti in questo studio confermano quanto riportato da altri autori in merito alle proprietà antiossidanti e antimicrobiche dei composti fenolici presenti nelle acque di vegetazione delle olive. L'impiego di tali composti come additivi naturali può quindi migliorare la qualità del salmone fresco, ritardando l'ossidazione lipidica, ostacolando la crescita microbica e, allo stesso tempo, aumentando la concentrazione in antiossidanti.

## C009

### Formulazione e valutazione della shelf-life di hamburger di pesce destinati a bambini in età prescolare

Giorgio Smaldone,<sup>1</sup> Raffaele Marrone,<sup>1\*</sup> Tiziana Zottola,<sup>2</sup> Lucia Vollano,<sup>1</sup> Giulio Grossi,<sup>1</sup> Maria Luisa Cortesi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico del Lazio e Toscana, Latina, Italy

\*raffaele.marrone@gmail.com

La valorizzazione di specie ittiche allevate e/o pescate rappresenta un elemento cardine per lo sviluppo di aree territoriali a scarsa attitudine alla produzione di prodotti ittici freschi o variamente preparati. Al fine di valorizzare diverse materie prime presenti in aree marginali e di incentivare il consumo di specie ittiche anche da parte di categorie di consumatori come i bambini, notoriamente non inclini verso questi alimenti, obiettivi dello studio sono stati: i) la formulazione di preparati (denominati *fishburgers*) a base di suri (*Trachurus trachurus*) e di trote (*Oncorhynchus mykiss*), destinati ad un target di bambini in età prescolare; ii) la valutazione della shelf-life di tali preparazioni confezionate in atmosfera protettiva e non. Sono state preparate due tipologie di *fishburger*, uno a base di suro (S) ed uno a base di trota (T). In relazione al target designato ed in funzione di un equilibrato bilanciamento di micro e macronutrienti sono stati scelti, oltre al pesce che ha rappresentato il 60% della preparazione, vari ingredienti anche di origine vegetale tra i quali bietola, patata, riso, fagioli, formaggio e spezie quali curcuma e cannella. I *fishburger* sono stati confezionati e divisi in una aliquota controllo (C) ed in una aliquota (AP) in atmosfera protettiva (5% O<sub>2</sub>, 60% CO<sub>2</sub>, 35% N). Il *panel test* è stato studiato e sviluppato al fine di essere facilmente comprensibile da parte di bambini di età compresa tra 3 e 5 anni: per la sua realizzazione sono state utilizzate *emotions* che esprimono 5 stati emozionali. Le analisi sono state eseguite al giorno 0 (materia prima), 1, 5, 8, 15, 22. Per l'esecuzione delle prove

microbiologiche sono stati ricercati: carica batterica totale a 5, 20 e 32°C, enterobatteri totali; *Escherichia coli*; *Pseudomonas* spp.; clostridi solfito-riduttori; stafilococchi; *Salmonella* spp.; *Listeria monocytogenes* (Lm). Per le analisi fisico-chimiche sono stati valutati: pH e attività dell'acqua, azoto basico volatile totale (ABVT) e trimetilamina (TMA), acidi grassi liberi, acido tiobarbiturico. Oltre l'85% di bambini ha espresso elevato gradimento del prodotto. Dal punto di vista sensoriale i *fishburgers* conservati in AP hanno una conservabilità maggiore; relativamente alle specie ittiche esaminate la carica batterica totale ha mostrato valori più elevati nelle preparazioni di suro rispetto a quelle di trota. Tra i patogeni, Lm è stata isolata in diversi intervalli di campionamento con concentrazioni massime di  $\log_{10}$  5 unità formanti colonie (UFC)/g nei *fishburgers* di suro e di  $\log_{10}$  2 UFC/g in quelli di trota. La miscelazione di ingredienti naturali ha reso possibile da un lato l'esaltazione delle caratteristiche organolettiche dall'altro la proposizione di un pasto con un ottimo bilanciamento dei valori nutrizionali. Nonostante i caratteri organolettici rendano ancora commerciabile i campioni in AP fino al 18° giorno dalla produzione ed i controllo fino al 12° giorno, a nostro avviso in relazione agli elevati valori di ABVT e TMA e delle cariche batteriche evidenziate la *shelf-life* debba essere ridotta a 14 e 8 giorni rispettivamente. Il riscontro di Lm comporta adeguate misure, nel contesto dell'autocontrollo, per individuare e contenere le fonti di contaminazione. La possibilità di diversificare le modalità di presentazione e di preparazione, utilizzando una materia prima ineccepibile in termini di freschezza e garantendo il pieno rispetto della catena del freddo, consente di sensibilizzare i bambini al consumo di pesce inserendo queste preparazioni nelle mense scolastiche.

## C010

### Nuovo approccio per la predizione della *shelf-life* di filetti di pesce in presenza di sostanze antimicrobiche naturali

Alessandro Giuffrida,<sup>1</sup> Filippo Giarratana,<sup>1</sup> Davide Valenti,<sup>2</sup> Daniele Muscolino,<sup>1</sup> Roberta Parisi,<sup>1</sup> Alessio Parco,<sup>1\*</sup> Stefania Marotta,<sup>1</sup> Graziella Ziino,<sup>1</sup> Antonio Panebianco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina, Messina; <sup>2</sup>Dipartimento di Fisica e Chimica, Università degli Studi di Palermo, Group of Interdisciplinary Theoretical Physics and CNISM, Palermo, Italy  
\*aparco@unime.it

La microbiologia predittiva è considerata un'area multidisciplinare emergente della microbiologia degli alimenti che trova sempre più applicazioni nella gestione della sicurezza alimentare. Essa ha lo scopo di creare ed applicare modelli matematici che correlano lo sviluppo dei microrganismi a specifiche variabili ambientali, chimiche e biologiche. Il presente studio ha lo scopo di mettere a punto un nuovo sistema di predizione della *shelf-life* dei prodotti ittici in presenza di sostanze antimicrobiche naturali (NAMS). Al riguardo, gli strumenti predittivi disponibili modellano l'effetto antimicrobico derivante dalle *condizioni ambientali* all'interno delle stesse equazioni con le quali si determina il calcolo del tasso di crescita (modelli secondari). Ciò comporta, pertanto, che per ogni diversa specifica sostanza antimicrobica impiegata è necessario reimpostare l'intero modello secondario rivalutando nuovamente anche l'effetto di parametri ampiamente consolidati (temperatura, pH, attività dell'acqua). Per ovviare a tale problematica è stata messa a punto una variazione del modello primario di Baranyi e Roberts (1994), basata sull'introduzione di una variabile che, come si evince dall'equazione [1], esprime l'effetto antimicrobico direttamente sulla concentrazione del microrganismo.

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{\max} x(Q/(1+Q))(1 - x/N_{\max})\xi \quad [1]$$

con  $1 > \xi > 0$  e  $x_0 \leq x$

Dove  $x$  è la concentrazione al tempo  $t$ ,  $\mu_{\max}$  è il tasso di crescita massimo,  $Q/(1+Q)$  esprime la durata della fase di latenza,  $N_{\max}$  è la concentrazione massima potenzialmente raggiungibile dalla popolazione batterica. Come si evince chiaramente dall'equazione [1], l'effetto antimicrobico espresso dal suddetto parametro è tanto più elevato quanto più basso sarà il valore di  $\xi$ . Per la parametrizzazione del modello sono stati impiegati 3 sets di dati ottenuti da precedenti sperimentazioni sul comportamento della flora alterante di filetti di pesce, in presenza ed in assenza di NAMS: il primo comprendente dati sulla crescita degli *specific spoilage organisms* in filetti di spigola additivati e non con isotiocianato di allile; il secondo su filetti di orata additivati con limonene; il terzo riguardante dati sull'impiego dell'olio essenziale di timo in filetti di tilapia. Il modello è stato risolto numericamente mediante l'algoritmo di Eulero e i valori di  $\xi$  sono stati ottenuti fittando i dati predittivi con quelli reali. I valori di  $\xi$  ottenuti per ogni set di dati hanno consentito di riprodurre con una elevata precisione (scarto quadratico medio sempre inferiore a 0,200) i dati reali e peraltro i valori di  $\xi$  sono risultati ben correlati alle concentrazioni di NAMS ( $R^2$  sempre  $>0,960$ ). La riproduzione dell'effetto antimicrobico ha consentito, inoltre, di quantizzare meglio l'effetto favorevole delle sostanze saggiate sulla conservabilità dei prodotti permettendo di esprimere, percentualmente, l'incremento della vita commerciale. I risultati ottenuti possono essere considerati soddisfacenti e prontamente applicabili alla predizione della *shelf-life* dei filetti di pesce additivati con sostanze antimicrobiche naturali. Inoltre il presente studio pone le basi per la realizzazione di una nuova generazione di modelli predittivi in grado di simulare, separatamente, crescita e inattivazione dei microrganismi, mediante l'introduzione di una variabile direttamente all'interno del modello primario.

## C011

### Analisi del genoma mitocondriale di alcune specie di Sparidi: risultati preliminari

Celestina Mascolo,<sup>1\*</sup> Marina Ceruso,<sup>1</sup> Paolo Sordino,<sup>2</sup> Giuseppe Palma,<sup>3</sup> Aniello Anastasio,<sup>1</sup> Tiziana Pepe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; <sup>2</sup>Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli; <sup>3</sup>Assoittica Italia, Roma, Italy  
\*celestine.mascolo@gmail.com

Precedenti studi hanno evidenziato che il mitogenoma (mtDNA) delle specie ittiche è costituito da una molecola circolare di 16-17 kb, che comprende 2 geni di RNA ribosomiale (rRNA), 22 geni di RNA transfer (tRNA), 13 geni codificanti proteine, e 2 regioni non codificanti. L'analisi di singoli geni di mtDNA (Cytb, il COI, il 16S e il 12S) o di frammenti di essi è stata ampiamente utilizzata da numerosi autori per l'identificazione di specie sia in prodotti ittici freschi che trasformati. L'analisi dell'intero genoma mitocondriale dei prodotti della pesca è il metodo più completo per lo studio e la caratterizzazione biomolecolare del pescato. Obiettivo preliminare del nostro studio è stato quello di estrarre ed amplificare l'intero mitogenoma di alcune specie ittiche di maggiore interesse commerciale appartenenti alla famiglia degli Sparidi. Le specie oggetto di indagine sono state *Dentex dentex*, *Dentex gibbosus*, *Dentex nufar*, *Pagellus acarne*, *Pagellus erythrinus*. Gli esemplari integri sono stati identificati sulla base dei caratteri morfologici presso il Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali - Università degli Studi Federico II Napoli. Il DNA è stato estratto dal tessuto muscolare e dalla pinna dorsale di ciascun esemplare. Sono stati prelevati 20 mg di tessuto da ogni punto di reperi, il DNA totale è stato estratto utilizzando il kit *DNeasy tissue* (Qiagen, Venlo, Paesi Bassi). L'estratto è stato quanti-

ficato mediante analisi spettrofotometrica ed è stato amplificato mediante reazione di *long polymerase chain reaction*. I *primers* utilizzati per l'amplificazione sono stati disegnati da Miya e Nishida (2001). I *primers* sono stati allineati con i mitogenomi degli Sparidi presenti in GenBank: *Acanthopagrus latus* (NC010977.1), *Acanthopagrus schlegelii* (JQ746035.1), *Dentex tumifrons* (NC\_029479.1), *Pagellus bogaraveo* (NC\_009502.1), *Pagrus major* (NC003196.1), *Pagrus auriga* (NC005146.1), *Parargyrops edita* (EF107158.1), *Rhabdosargus sarba* (KM272585.1), *Sparus aurata* (LK022698.1) al fine di valutare il grado di omologia. La tecnica utilizzata ha consentito di estrarre correttamente il DNA da tutti gli esemplari oggetto di studio. Maggiori quantità e migliore qualità di DNA sono state ottenute dalla pinna dorsale. I *primers* utilizzati hanno dimostrato buona compatibilità ed efficienza per tutte le specie esaminate. Le reazioni di amplificazione hanno consentito di ottenere due frammenti rispettivamente di 8 e 9.5 kb, complementari tra loro e corrispondenti all'intero genoma mitocondriale di ciascun esemplare oggetto di studio. Questo studio preliminare ha comportato la messa a punto di un metodo di estrazione ed amplificazione dell'intero mitogenoma di vari esemplari appartenenti alla famiglia degli Sparidi. Standardizzare un metodo di estrazione ed amplificazione così complesso è una tappa fondamentale per proseguire in modo corretto lo studio del mitocondrio. La fase successiva del nostro studio prevederà il sequenziamento e l'analisi della variabilità genetica dei mitogenomi ottenuti. L'intero mtDNA è in grado di dare informazioni complete ed utili per evidenziare la presenza di eventuali regioni variabili nell'ambito della specie, sulle quali disegnare *primers* in grado di amplificare frammenti specie/specifici. Tale tecnica consentirà una rapida identificazione di specie mediante un'unica reazione di amplificazione, fornendo le basi per la *tracciabilità molecolare* del pescato in sintonia con quanto previsto dal Regolamento (UE) 1379/2013.

## Giovedì 15 settembre 2016

### C012

#### Bassa prevalenza di *Salmonella enterica* in bovini macellati in Emilia-Romagna

Silvia Bonardi,<sup>1\*</sup> Ilaria Bruini,<sup>1</sup> Rossella Magnani,<sup>2</sup> Nicolò Cannistrà,<sup>2</sup> Franco Brindani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Unità di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Università degli Studi di Parma, Parma;

<sup>2</sup>Azienda Unità Sanitaria Locale di Parma, Servizio Veterinario, Parma, Italy

\*silvia.bonardi@unipr.it

Le bovine da latte possono albergare *Salmonella* a livello intestinale e, tramite l'escrezione fecale, contaminare il latte in fase di mungitura e le carni durante la macellazione. Per studiarne il ruolo zoonotico nella regione Emilia-Romagna, si è valutata la prevalenza di contaminazione da *Salmonella* sul mantello e nelle feci di soggetti in attesa di macellazione. Il confronto dei pulsotipi di *Salmonella* isolati dagli animali e dai casi clinici umani notificati nella stessa regione rappresenta un importante strumento per definire il ruolo epidemiologico dei bovini nella salmonellosi umana. Nel periodo febbraio 2016-maggio 2016 sono state selezionate con tecnica *random* 125 bovine da latte presso un macello della provincia di Parma. Gli animali provenivano da 89 allevamenti delle province di Cremona, Mantova, Parma, Piacenza e Reggio Emilia. Sugli animali in fase di pre-macellazione sono stati eseguiti tamponi con spugne

inumidite con *buffered peptone water* in corrispondenza dello sterno in aree di 400 cm<sup>2</sup> e sono stati prelevati campioni di feci di 1 g dall'ampolla rettale. Lo sterno è stato selezionato quale area del mantello a maggior rischio di contaminazione, come indicato dalla *European Food Safety Authority* (2007). Il campionamento è stato eseguito durante otto visite, intervallate di una/due settimane. Le spugne sono state analizzate mediante il metodo ISO 6572:2002, mentre per i campioni fecali si è seguito il metodo ISO 6572:2008 Amd.1. Gli isolati sono stati tipizzati dal punto di vista sierologico (schema di Kaufmann-White-Le Minor) e genotipico (XbaI PFGE). La contaminazione da *Salmonella* ha riguardato solo il mantello con una prevalenza dell'1,6% (2 positivi/125), mentre le feci sono risultate negative. I sierotipi isolati sono *S. Dublin* e *S. Seftenberg*. In base allo studio genomico il ceppo di *S. Seftenberg* è risultato poco comune nel bovino, a differenza del ceppo di *S. Dublin*. Nessuno dei due stipiti di origine bovina ha presentato correlazioni con i ceppi responsabili di casi umani di salmonellosi notificati nella regione Emilia-Romagna negli anni 2011-2015. Lo studio ha messo in evidenza alcuni importanti aspetti legati al ruolo delle bovine da latte nella contaminazione delle carni da parte di *Salmonella*: i) il mantello può rappresentare un potenziale veicolo di *Salmonella* all'interno del macello; ii) il mancato isolamento del microrganismo dalle feci potrebbe derivare dall'intermittenza di escrezione del patogeno da parte di animali clinicamente sani, ma potrebbe anche indicare la sua reale assenza nell'intestino dei soggetti testati; iii) le bovine con il mantello contaminato da *Salmonella*, ma negative all'isolamento fecale, potrebbero aver acquisito il microrganismo in azienda o nelle fasi di trasporto/permanenza in stalla/di sosta mediante il contatto con materiale fecale di altri soggetti escretori. Il presente studio conferma, pertanto, il potenziale rischio rappresentato dalla fase di scuoiamento dei bovini per la contaminazione da *Salmonella* delle carni. La bassa prevalenza e la mancanza di riscontro degli stipiti di origine bovina tra i ceppi responsabili dei casi umani mette in evidenza il ruolo non prevalente di questa specie animale nell'epidemiologia della salmonellosi umana.

### C013

#### Studio preliminare per la valutazione dello stress pre-macellazione in un macello avicolo

Serena Santonicola, Maria Francesca Peruzi, Nicoletta Murru,\* Maria Luisa Cortesi, Raffaella Mercogliano

Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzione Animale, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italy

\*murru@unina.it

Lo stress pre-macellazione può indurre una rapida glicolisi, discesa del pH e citotossicità muscolare nel pollame. Nei macelli avicoli le condizioni di intensità e frequenza scelte per lo stordimento elettrico possono influenzare lo stato di benessere e la qualità finale delle carni. Per valutare lo stress correlato allo stordimento, in una precedente sperimentazione n. 96 *broilers* Ross sono stati macellati in assenza di stordimento e secondo due modalità di stordimento elettrico (800 Hz; 200 mA; 53 V e 1000 Hz; 200 mA; 67 V). Come indicatori di stress nelle carcasse sono stati individuati parametri fisico-chimici (pH), chimici (perossidi muscolari) ed istologici (valutazione del glicogene ed alterazioni muscolari). L'elaborazione dei risultati ha mostrato significative differenze tra i lotti per quanto riguarda gli indicatori fisico-chimici, ma non per quelli istologici. Scopo dell'attuale ricerca è stato quello di continuare a studiare l'applicabilità al macello dei parametri fisico-chimici e chimici su un numero rappre-

sentativo di animali, sperimentando, in alternativa, parametri biochimici per la determinazione della riserva di glicogeno e utilizzando due nuovi protocolli di stordimento: i) 250 Hz, 640 mA, 60V (lotto C); e ii) 150 Hz, 360 mA, 60 V (lotto A). La sperimentazione è stata preliminarmente condotta in n. 20 *broilers* appartenenti ad un'unica partita, provenienti dallo stesso allevamento e sottoposti alle medesime condizioni pre-macellazione. Il pH è stato misurato con pHmetro, l'ossidazione muscolare mediante due determinazioni: *international dairy deederation method* e *ferrous oxidation-xynelol orange method*. La valutazione del glicogeno è stata effettuata mediante una determinazione enzimatica (*coupled enzyme assay*; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Stati Uniti). La qualità delle carni è stata valutata mediante un sistema di assegnazione di un punteggio ed espressa come percentuale di difetti delle carcasse. Pur essendo limitato il numero di animali esaminati finora, i risultati ottenuti sono in linea con quelli della precedente sperimentazione, indicando una corretta acidificazione a partire da 3 ore dalla macellazione (pH 6,49 lotto C e 6,37 lotto A), una migliore conservazione della riserva di glicogeno muscolare (0,770 L/50 mL lotto C e 1497 L/50 mL lotto A) e un lieve aumento della perossidazione muscolare (IDF: 0,109 MeqO<sub>2</sub>/kg lotto C e 0,122 MeqO<sub>2</sub>/kg lotto A); (FOX: 0,131 MeqO<sub>2</sub>/kg lotto C e 0,140 MeqO<sub>2</sub>/kg lotto A) nelle carni ottenute dal lotto A rispetto al lotto C. Inoltre, nelle carcasse del lotto A si è registrata una ridotta percentuale di difetti. I parametri clinici, biochimici e strumentali, anche se considerati validi indicatori di benessere animale al macello, non sono di facile applicazione nella pratica dei macelli. In un approccio integrato alla valutazione del benessere animale al macello, i parametri di pH, riserva di glicogeno e attività ossidativa muscolare hanno fornito valide indicazioni, mostrando una condizione di minore stress pre-macellazione correlato allo stordimento a ridotta frequenza e amperaggio. Questi parametri potrebbero essere utilizzati come indicatori più rapidi e facili da applicare, in modo routinario, al macello per valutare lo stato di benessere e la qualità delle carni avicole.

## C014

### Presenza di anidride solforosa-solfiti in preparazioni di carni fresche commercializzate nel Lazio

Giuseppe Carrabs,<sup>1</sup> Giorgio Smaldone,<sup>2\*</sup> Leonardo Carosielli,<sup>3</sup> Maria Grazia Girasole,<sup>2</sup> Marco Iammarino,<sup>4</sup> Eugenio Chiaravalle<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Azienda Sanitaria Locale Latina; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli;

<sup>3</sup>Azienda Sanitaria Locale Foggia; <sup>4</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italy

\*giorgio.smaldone@unina.it

I solfiti (E220-E228) sono largamente impiegati come additivi in campo alimentare. Essi rappresentano l'unica categoria di sostanze - tra le 14 previste nell'Allegato II del Regolamento (UE) n. 1169/2011 - caratterizzata da una soglia di tolleranza, al di sotto della quale l'indicazione specifica con evidenza in etichetta non è prescritta; per tale ragione il loro utilizzo è soggetto ad indicazione obbligatoria mediante la dicitura *contiene solfiti* laddove il tenore complessivo nel prodotto finale sia pari o superiore a 10 mg/kg o 10 mg/L. In ogni caso, nelle preparazioni a base di carni fresche macinate non ne è consentita l'aggiunta. Scopo di questo lavoro è stato valutare la presenza di tali additivi in categorie alimentari per le quali non ne è consentito l'utilizzo ma per le quali, in relazione alla tecnologia di produzione, una quantità residuale potrebbe essere presente al fine di proporre un livello soglia, fatto salvo quanto previsto dal Reg. (UE) n. 1169/2011. L'indagine è stata eseguita su 38 campioni di preparazioni di carni

fresche (hamburger e salsicce suine) nell'ambito dei controlli ufficiali condotti presso 19 esercizi commerciali della Regione Lazio. Le determinazioni analitiche sono state eseguite presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Puglia e Basilicata attraverso uno *screening* di tipo qualitativo (AOAC, 1990) e a successiva conferma dei campioni risultati positivi mediante cromatografia ionica [Regolamento (CE) n. 882/2004]. In 12 campioni prelevati in 11 esercizi commerciali (n. 6 hamburger e n. 6 salsicce) su 38 è stata evidenziata la presenza di solfiti con concentrazioni comprese tra 13.3 e 1278.9 mg/kg. In particolare 5 campioni (n. 2 hamburger e n. 3 salsicce) hanno mostrato livelli superiori a 200 mg/kg e i restanti 7 (n. 4 hamburger e n. 3 salsicce) valori inferiori a 35 mg/kg. Dall'analisi dei risultati è possibile suddividere i campioni risultati positivi in due gruppi. Gruppo A valori superiori anche ai dosaggi consentiti per altre tipologie di alimenti e gruppo B con valori inferiori a 35 ppm. È lecito ipotizzare che nei prodotti del gruppo A la presenza dei solfiti debba essere attribuita ad un utilizzo illegale. Tale dato fa emergere come questo tipo di sofisticazione sia ancora molto diffusa e che, dunque, si rendono necessarie misure di contrasto adeguate. Nei campioni del gruppo B le concentrazioni evidenziate potrebbero essere attribuite al fenomeno del *carry over* e/o derivare dall'aggiunta al prodotto di particolari ingredienti contenenti solfiti (es. vino bianco). Considerata la distribuzione e l'entità delle concentrazioni registrate e alla luce di altri dati di ricerche precedenti, si potrebbe ipotizzare in 40,0 mg/kg il limite massimo ammissibile di solfiti nelle preparazioni di carni fresche dovuto alla presenza di ingredienti per i quali i solfiti sono consentiti. In tal caso comunque vigerebbe l'obbligo di indicarne la presenza in etichetta ai sensi del Reg. (UE) n. 1169/11 essendo quantitativi superiori a 10 mg/kg.

## C015

### Igiene delle superfici nelle aziende che lavorano la carne in provincia di Trento

Rosaria Lucchini,<sup>1\*</sup> Barbara Cardazzo,<sup>2</sup> Enrico Novelli,<sup>2</sup> Anna Dalsasso,<sup>1</sup> Giovanni Farina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Trento; <sup>2</sup>Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università degli Studi di Padova, Padova, Italy

\*rlucchini@izsvnezie.it

Scopo del presente lavoro è descrivere l'igiene delle superfici di attrezzature e ambienti di lavorazione nelle aziende del settore carne in provincia di Trento e individuare le superfici/attrezzature maggiormente a rischio che devono essere monitorate nell'ambito del piano di autocontrollo. Tamponi ambientali e piastre a contatto sono stati effettuati su attrezzature e superfici di lavoro in aziende di lavorazione delle carni (prevalentemente di bovino e suino) della Provincia di Trento nell'ambito delle verifiche che gli operatori del settore alimentare prevedono nel loro piano di autocontrollo e nell'ambito dei controlli ufficiali svolti dal Servizio Veterinario, durante il periodo di riferimento 2009-maggio 2016. Metodi di analisi: ricerca di *Salmonella* spp. [ISO 6579:2002/Cor 1:2004 (E) e AFNOR BRD 07/06-07/04]; ricerca di *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1:2005 e AFNOR BRD 07/10-04/05); conta di microrganismi mesofili ed enterobatteri a 37°C su superficie di 10 cm<sup>2</sup> di piastre a contatto (ISO 18593:2004). Limite di accettabilità: assenza di *Salmonella* spp., assenza di *L. monocytogenes*; microrganismi mesofili <10 unità formanti colonie (UFC)/cm<sup>2</sup>; enterobatteri a 37°C: <1 UFC/cm. Sono state oggetto di studio 218 aziende [12 macelli, 52 macellerie, 115 macellerie della grande distribuzione organizzata (GDO), 39 salumifici], per un totale di 4685 tamponi per *L. monocytogenes*, 2382 per la *Salmonella*, 30.412 per

microrganismi mesofili e 28.333 per enterobatteri a 37°C. Tra il 2009 e 2016 la *Salmonella* spp. non è mai stata riscontrata eccetto un caso in un salumificio. La presenza di *L. monocytogenes* nel complesso è diminuita passando dal 5,0% del 2009 al 1,2% del 2016, sebbene nelle macellerie si sia osservato un aumento da 0% del 2009 a 7,0% del 2016. I salumifici presentano ricorrenti contaminazioni da parte del patogeno (range 0,4-8,3%). Va sottolineato che la positività di *L. monocytogenes* è prevalentemente associata a poche aziende. Nei macelli *L. monocytogenes* risulta sempre assente. Le superfici e attrezzature delle macellerie della GDO presentano una ridotta contaminazione da *L. monocytogenes* passando da 7,1% del 2009 a 0% del 2016. La conformità delle superfici alla presenza di enterobatteri supera in media l'80% in tutte le aziende: i macelli sono sempre risultati conformi, eccetto l'anno in corso. Nelle macellerie circa l'80% delle superfici presentano valori accettabili di carica mesofila, con valori leggermente inferiori nelle macellerie della GDO, dove però si assiste ad un miglioramento. I salumifici presentano superfici conformi per l'80% per carica mesofila e 96% per enterobatteri. Si può quindi riassumere che i macelli si confermano la categoria con migliori livelli di igiene ambientale, mentre le macellerie, soprattutto quelle annessa a GDO, necessitano di particolare attenzione nell'igiene negli ambienti di lavorazione. Alcune tipologie di superfici/attrezzature (pavimenti, insaccatrici o impastatrici) risultano maggiormente contaminate da parte di *L. monocytogenes*, ma contemporaneamente presentano scarsi livelli di contaminazione da parte di indicatori di igiene. Le superfici maggiormente contaminate da enterobatteri e carica mesofila, per contro, sono risultate i taglieri e i banchi di lavoro, oltre a tritacarne e affettatrici, rimarcando la mancata corrispondenza tra la presenza di patogeni e di indicatori di igiene.

## C016

### Trasferimento di metodiche analitiche per la determinazione di sulfamidici in mangimi e muscolo su colonne cromatografiche core-shell usando sistemi cromatografici convenzionali

Antonio Armentano,<sup>1</sup> Simona Summa,<sup>1</sup> Sonia Lo Magro,<sup>1</sup> Pasqualino D'Antini,<sup>1</sup> Carmen Palermo,<sup>2</sup> Marilena Muscarella<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Puglia e Basilicata, Foggia;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, degli Alimenti e dell'Ambiente, Università degli Studi di Foggia, Foggia, Italy

\*marilena.muscarella@izspb.it

Tempi rapidi ed accuratezza di analisi sono dei requisiti indispensabili in tutti i campi analitici, in particolare in quello alimentare, biologico, farmaceutico e ambientale. In cromatografia liquida, la nuova tendenza all'utilizzo di colonne cromatografiche impaccate con particelle di dimensioni molto piccole (circa 2 µm) permette di ottimizzare al massimo i tempi di risposta strumentale ed avere un notevole risparmio di solventi, con una elevata efficienza e risoluzione. Tali colonne, tuttavia, non possono essere adoperate con i sistemi cromatografici convenzionali, dal momento che sono necessarie strumentazioni capaci di sostenere pressioni attorno ai 1000 bar [ultra performance liquid chromatography (UPLC)]. Nuove colonne analitiche con tecnologia core-shell, impaccate con particelle costituite da una parte solida impermeabile e una parte superficiale porosa, hanno recentemente attirato l'interesse di un alto numero di laboratori di analisi dal momento che offrono alte prestazioni analitiche (alta efficienza separativa e alta velocità di analisi) con pressioni (<400 bar) che possono essere sostenute dai più comuni sistemi di high performance liquid chromatography (HPLC). Queste

nuove colonne, pertanto, possono essere adoperate sia nelle più recenti strumentazioni UPLC, combinate a sistemi di rivelazione altamente sensibili quali spettrometria di massa (MS), che nei tradizionali HPLC con rivelatori ultra violet/diode array detector (UV/DAD) e fluorimetrici (FL) con prestazioni analitiche confrontabili. Il lavoro in oggetto nasce dall'esigenza di ottimizzare metodiche analitiche HPLC/DAD per la ricerca di sulfamidici in diverse matrici alimentari già in uso nel nostro laboratorio e validate secondo le normative europee, riducendo i tempi di analisi senza dover modificare le fasi di estrazione e clean-up e l'apparato strumentale, migliorando le performances analitiche e garantendo un alto livello di sicurezza alimentare. Le analisi strumentali sono state condotte su un cromatografo liquido convenzionale composto da una pompa binaria, un sistema automatico di iniezione, un sistema di termostatazione per colonna e un rivelatore DAD. La colonna analitica utilizzata è una core-shell C18 (75x4,6 mm, dimensioni particelle 2,6 µm). Nel nostro laboratorio, per l'analisi di controllo ufficiale al fine di determinare sulfamidici in mangimi e muscolo, si usano due metodiche analitiche validate basate sull'uso di HPLC e rivelazione DAD che prevedono l'uso di una colonna cromatografica tradizionale (250x4,6 mm, dimensioni di particelle 5 µm). L'intera corsa cromatografica in gradiente si svolge in 40-45 minuti. Il trasferimento di queste metodiche su colonne core-shell ha permesso la separazione di 13 sulfamidici per il muscolo e 10 per il mangime in soli 13 minuti, con notevole miglioramento in termini di efficienza e risoluzione. Tale risultato è stato ottenuto variando solo il gradiente e il volume di iniezione e mantenendo, a flussi confrontabili con quelli usati con colonne tradizionali, contropressioni inferiori ai 200 bar. Nel presente lavoro si è dimostrato come è possibile, con l'uso di nuove fasi stazionarie, ridurre di più di un terzo i tempi di analisi senza dover apportare modifiche sostanziali a metodi di analisi già sviluppati e all'apparato strumentale cromatografico. L'utilizzo di questa tecnologia può essere estesa ad altre sostanze antibatteriche, particolarmente labili, evitando la formazione di prodotti di degradazione.

## C017

### Analisi dei fattori di processo di un insaccato da stagionare per il controllo di *Listeria monocytogenes*

Enrico Novelli,<sup>1</sup> Lucia Dal Santo,<sup>2</sup> Stefania Balzan,<sup>1</sup> Barbara Cardazzo,<sup>1</sup> Dino Spolaor,<sup>2</sup> Angiolella Lombardi,<sup>2</sup> Lisa Carraro,<sup>1</sup> Luca Fasolato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università degli Studi di Padova, Padova; <sup>2</sup>Istituto per la Qualità e le Tecnologie Agroalimentari, Veneto Agricoltura, Thiene (VI), Italy

\*luca.fasolato@unipd.it

Nel periodo 2013-2016 sono stati svolti 12 challenge tests finalizzati alla verifica della capacità di crescita di *Listeria monocytogenes* sperimentalmente inoculata in un impasto da insaccare e stagionare. Il challenge test è stato progettato per valutare il potenziale di crescita di *L. monocytogenes* durante tutte le fasi produttive fino alla fine della stagionatura (range 7-60 giorni) e anche durante il periodo di conservabilità del prodotto se questo favorisce la crescita del patogeno. In tutti e 12 i tests è stata impiegata una miscela con tre differenti ceppi di *L. monocytogenes*, di cui due ceppi di campo isolati in precedenza da salami e uno proveniente da una ceppoteca. La miscela è stata inoculata durante la fase di impastatura in quantità tale da ottenere una carica iniziale prossima a 100 unità formanti colonie (UFC)/g di impasto. L'impasto è stato preparato secondo differenti formulazioni riproponendo così

altrettante modalità di produzione oggi disponibili sul mercato. La formulazione più semplice era rappresentata dall'impiego di sale, nitrato di potassio, pepe e colture di avviamento laddove la più articolata comprendeva anche l'utilizzo di zuccheri e acido ascorbico in aggiunta ai suddetti ingredienti. Tutte le lavorazioni sono state condotte all'interno di un'area dedicata a laboratorio sperimentale per la lavorazione della carne. Dopo l'insacco (sempre in budello naturale) i salami sono stati asciugati e stagionati entro una camera con controllo della temperatura e dell'umidità relativa. Il potenziale di accrescimento di *L. monocytogenes* ( $\delta$ ) è stato calcolato come la differenza tra  $\log_{10}$  UFC/g ad ogni tempo di stagionatura e il  $\log_{10}$  UFC/g dell'impasto di partenza. I prodotti che hanno presentato un valore di  $\delta > 0,5 \log$  UFC/g sono stati considerati come favorevoli alla crescita di *L. monocytogenes*. Differenti analisi multivariate (DMFit, PCoA, Clustering, dbRDA, PERMANOVA e regressione logistica) sono state adottate per evidenziare i fattori maggiormente influenti sull'accrescimento di *Listeria* nei salami. Quattro Challenge hanno presentato un  $\delta > 0,5 \log$  UFC/g; alcuni fattori legati all'impasto e al processo sembrano essere determinanti per l'inibizione di *Listeria*. L'analisi correlativa dei parametri stimati per le curve di accrescimento, dei valori di  $\delta$  e dei dati grezzi di crescita evidenzia come la fase di asciugatura dell'insaccato, l'utilizzo o meno degli starters e le specie impiegate siano i fattori predominanti sul controllo del patogeno. La fase di asciugatura a caldo rispetto quella a freddo risulta particolarmente correlata ai campioni non conformi (PERMANOVA  $P=0,001$ ) così come l'impiego o meno degli starter ( $P=0,002$ ). Al contrario, la durata della fase di stagionatura non sembra essere influente. Tra le variabili chimico-fisiche, il valore di pH rispettivamente misurato al centro del prodotto e in prossimità del budello risultano statisticamente influenti sulla variabilità di *Listeria* (pseudo  $P=0,001$  e  $P=0,025$  rispettivamente).

## C018

### Shelf-life microbiologica e chimico-fisica di mortadella di fegato e accettabilità da parte del consumatore

Erica Tirloni,\* Simone Stella, Cristian Bernardi, Vittorio Maria Moretti, Carla Bersani, Patrizia Cattaneo

Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

\*erica.tirloni@unimi.it

In questo studio è stata valutata la *shelf-life* di mortadella di fegato affettata, confezionata in atmosfera modificata (70-85%  $N_2$ , 15-30%  $CO_2$ ) e conservata a 4 e 8°C per 49 giorni (*shelf-life* dichiarata: 45 giorni). A TO sono state determinate la composizione centesimale, l'attività dell'acqua ( $a_w$ ) e la concentrazione di sale e nitriti. Settimanalmente, i campioni sono stati sottoposti ad analisi microbiologiche [carica batterica totale, batteri lattici (LAB), *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., Stafilococchi coagulasi-positivi, Clostridi solfito-riduttori, lieviti e muffe, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.] e chimico-fisiche [pH, parametri colorimetrici, *total volatile basic nitrogen* (TVBN), *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARs)], e test di accettabilità da parte del consumatore. Le caratteristiche del prodotto (bassa concentrazione di sale e nitriti,  $a_w$  elevata e pH di circa 6,5) non sono inibenti nei confronti dei microrganismi. Non sono stati rilevati patogeni nei campioni; la carica batterica totale iniziale [5,4 log unità formanti colonie (UFC)/g] è aumentata rapidamente raggiungendo valori di circa 8 log UFC/g a T14 in entrambe le serie; la predominanza dei LAB ha causato la graduale acidificazione del prodotto (pH a T49=5,05 a 4°C e 5,24 a 8°C). Gli altri parametri

microbiologici sono risultati inferiori a 2 log UFC/g. È stata rilevata una buona stabilità della componente proteica e lipidica (TVBN<33 mg N/100 g e TBARs<8 nmol/g a T49). La qualità sensoriale del prodotto è stata influenzata maggiormente dal tempo di stoccaggio che dalla temperatura; una modificazione del colore è stata rilevata a partire dal T35, quando il prodotto risultava anche inaccettabile da diversi valutatori a causa dell'odore. La *shelf-life* del prodotto dovrebbe essere quindi ridotta a 28-30 giorni.

## C019

### Abstract non presentato

## C020

### Formaggi tradizionali siciliani: valutazione dell'attività inibente dei batteri lattici versus *Listeria monocytogenes* in caseificazioni sperimentali

Maria Luisa Scatassa,<sup>1\*</sup> Raimondo Gaglio,<sup>2</sup> Cinzia Cardamone,<sup>1</sup> Giusi Macaluso,<sup>1</sup> Luigi Arcuri,<sup>3</sup> Massimo Todaro,<sup>2</sup> Isabella Mancuso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo;

<sup>2</sup>Dipartimento di Agricoltura e Scienze Forestali, Università degli Studi di Palermo, Palermo; <sup>3</sup>Azienda Sanitaria Provinciale Palermo, Italy

\*luisascatassa@gmail.com

Precedenti studi condotti su formaggi tradizionali siciliani a latte crudo hanno messo in evidenza la capacità della microflora lattica (LAB) naturalmente presente di inibire *in vitro* la crescita di *Listeria monocytogenes*. Il presente studio intende valutare la capacità dei LAB produttori di *bacteriocin-like inhibitory substances* (BLIS) di influenzare la crescita di *L. monocytogenes* nel corso dei processi produttivi di formaggi ovini tradizionali a latte crudo. Sono state eseguite tre tipologie di prove sperimentali, in via preliminare *L. monocytogenes* ATCC 7644 è stata inoculata [2 e 4  $\log_{10}$  unità formanti colonie (UFC)/mL] in latte UHT e crudo, unitamente ai LAB da testare (7  $\log_{10}$  UFC/mL); i campioni di latte incubati a 37°C sino al raggiungimento di un pH di circa 5,5 (6-12 h), dopo una notte a 4°C sono stati analizzati per valutare se i LAB inibissero la crescita del patogeno. Sono state condotte 10 caseificazioni a latte pastorizzato il cui processo produttivo non prevedeva la cottura del coagulo e la salatura dei formaggi per minimizzare eventuali effetti inibenti (biocompetizione, fermentazioni acide, pH, temperatura, ecc.) non riconducibili ai LAB da testare. In tutti i processi produttivi il latte è stato inoculato con 4  $\log_{10}$  UFC/mL di *L. monocytogenes* e 7  $\log_{10}$  UFC/mL di LAB. Le due caseificazioni tradizionali sono state eseguite secondo i processi produttivi del Pecorino e della Vastedda della valle del Belice ad esclusione dell'utilizzo delle attrezzature in legno, con latte crudo (caseificazione di controllo) e latte crudo inoculato con una miscela di 3 LAB *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus rhamnosus* ed *Enterococcus faecium* con una concentrazione di 7  $\log_{10}$  UFC/mL per ogni ceppo. Su latte, cagliata, pasta prima della filatura e formaggi a 24 h e 7 gg è stata condotta la ricerca qualitativa e quantitativa di *L. monocytogenes* (UNI EN ISO 11290-1:2005 e UNI EN ISO 11209-2:2005) e della flora lattica mesofila e termofila (M17 e MRS Agar incubati a 30 e 44°C x48-72 h). *L. monocytogenes* è stata ritrovata nel latte crudo, nel latte UHT e nei formaggi a latte pastorizzato e processo produttivo semplificato in concentrazioni di 4-5  $\log_{10}$  UFC/mL o g. Nella lavorazione tradizionale di pecorino i formaggi con la miscela dei LAB hanno presentato una concentrazione di *L. monocytogenes* legger-

mente inferiore rispetto a quella dei formaggi di controllo con il solo patogeno. Nel processo produttivo di Vastedda della valle del Belice, nella pasta prima della filatura (pH 5,10-5,14) il patogeno risulta drasticamente ridotto ( $2,5 \log_{10}$  UFC/g), nella lavorazione con i LAB e nel prodotto finito il patogeno si ritrova in bassissime concentrazioni ( $1 \log_{10}$  UFC/g) nei formaggi di controllo e assente nei formaggi con l'aggiunta dei LAB. I risultati ottenuti confermano che il latte e, ancor di più i formaggi, presentano un ecosistema batterico complesso in cui le popolazioni microbiche interagiscono fra di loro in sinergia, competizione o antagonismo. La sola aggiunta di LAB produttori di BLIS in latte o processi di caseificazione semplificati non è in grado di inibire la crescita del patogeno. La complessità delle interazioni microbiche e il processo produttivo a pasta filata contribuiscono ad inibire la crescita di *L. monocytogenes* e pertanto concorrono al conseguimento degli obiettivi di sicurezza alimentare.

## C021

### Definizione di un processo di produzione di formaggio e di ricotta a base di latte crudo di pecora senza lattosio

Luisa Pulinas,<sup>1</sup> Carlo Spanu,<sup>1</sup> Ilenia Idda,<sup>2</sup> Ignazio Ibba,<sup>3</sup>  
Salvatore Viridis,<sup>1</sup> Christian Scarano,<sup>1\*</sup> Francesca Piras,<sup>1</sup>  
Nadia Spano,<sup>2</sup> Gavino Sanna,<sup>2</sup> Enrico Pietro Luigi De Santis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari, Sassari; <sup>2</sup>Dipartimento di Chimica e Farmacia, Università degli Studi di Sassari, Sassari; <sup>3</sup>Laboratorio Associazione Regionale Allevatori della Regione Sardegna, Cagliari, Italy

\*scarano@uniss.it

La diffusa sensibilità dei consumatori nei confronti dell'intolleranza al lattosio, determinata da carenza totale o parziale dell'enzima beta-galattosidasi, ha determinato il considerevole incremento della domanda di prodotti *senza lattosio*. In collaborazione con un caseificio aziendale artigianale situato in Sardegna, è stato sviluppato un progetto per la realizzazione di prodotti artigianali certificabili *senza lattosio*, che includevano un formaggio a base di latte crudo di pecora a pasta semicotta *tipo Osilo* e la ricotta, nelle tipologie fresca e salata affumicata (cosiddetta *mustia*). Il progetto prevedeva la definizione della concentrazione ottimale di lattasi da aggiungere al latte, la conduzione di prove di trasformazione del latte delattosato con le tecnologie già in uso presso il caseificio aziendale e la verifica finale delle concentrazioni di lattosio residue nei prodotti. Preliminarmente si è proceduto a determinare l'attività enzimatica della preparazione commerciale contenete lattasi (Chr. Hansen, Avedoere, Danimarca) mediante titolazione spettrofotometrica (AOAC, 998.04). In laboratorio è stata quindi definita la concentrazione ottimale della lattasi necessaria per ottenere il latte delattosato, aggiungendo in triplicato l'enzima in campioni di latte ovino, alle concentrazioni di 0,7, 0,9 e 1,1 g/L. La miscela veniva incubata utilizzando un gradiente di temperatura ed una durata che riproducevano le condizioni previste nella conservazione del latte ed in caseificio. La determinazione del tenore in lattosio nel latte è stata effettuata mediante pHmetria differenziale (ISO 26462/IDF 201, 2010), con limite di quantificazione (LOQ) <0,06 g/L. Presso il caseificio aziendale si è proceduto quindi ad effettuare tre prove di trasformazione di latte delattosato, con produzione di formaggio ovino, ricotta fresca e ricotta mustia. I campioni sono stati prelevati in triplicato ed analizzati, nel caso del formaggio dopo 24 ore e dopo 30 giorni dalla produzione; per la ricotta fresca dopo 48 ore e per la ricotta mustia dopo 7 giorni dalla produzione. Nei prodotti trasformati, il tenore in lattosio è stato determinato mediante un

metodo analitico originale gascromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma con derivatizzazione, predisposto e validato *ad hoc*, che ha evidenziato valori per il limite di rilevabilità (LOD) e di quantificazione (LOQ) pari, rispettivamente, a 1,8 e 5,6 mg/kg per il formaggio e 1,3 e 4,2 mg/kg per la ricotta. I risultati ottenuti evidenziano che nella preparazione enzimatica commerciale la concentrazione di lattasi era corrispondente a 1,1 *neutral lactase units*. Nelle prove di laboratorio, l'aggiunta di lattasi con una concentrazione pari a 1,1 g/L di latte, ha consentito di ottenere livelli di lattosio <0,06 g/L. Le prove di produzione in caseificio evidenziano nel latte addizionato di lattasi (1,1 g/L) una concentrazione in lattosio non superiore a 0,06 g/L. Nel formaggio (a 0 e 30 giorni), nella ricotta fresca e nella ricotta mustia la concentrazione di lattosio è risultata sempre inferiore ai rispettivi LOQ. I risultati ottenuti evidenziano che la produzione di formaggi e ricotte senza lattosio è facilmente realizzabile anche in caseifici aziendali. Maggiori difficoltà per le aziende derivano dalle procedure di autorizzazione alla produzione di prodotti certificati *senza lattosio* da parte dell'Autorità competente e dall'esigenza di adottare specifici programmi di autocontrollo, con verifica delle concentrazioni finali di lattosio.

## C022

### Produzioni artigianali e sicurezza alimentare: le agrigelaterie

Irene Aimone Giggio,<sup>1</sup> Marco Ortoffi,<sup>2</sup> Daniele M. Nucera,<sup>3</sup>  
Sara Lomonaco,<sup>2</sup> Patrizia Morra,<sup>2</sup> Maria Ausilia Grassi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Medico Veterinario Libero Professionista; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Torino; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali ed Alimentari, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO), Italy

\*auxilia.grassi@unito.it

L'agrigelateria è una recente realtà caratterizzata dalla produzione di gelato artigianale a km zero. Allevatori di bovine lattifere diventano essi stessi i produttori del gelato e come tali risultano a tutti gli effetti degli operatori del settore alimentare. La caratteristica delle agrigelaterie è inoltre quella di trasformare la propria materia prima in loco, infatti queste sono ubicate nello stesso luogo dell'azienda agricola di provenienza del latte crudo, o comunque a poche centinaia di metri di distanza. Attualmente non esiste in Italia ancora molta letteratura inerente le caratteristiche igienico-sanitarie del gelato artigianale e della sua produzione. Partendo da un approccio di filiera mirato all'analisi delle caratteristiche e delle condizioni igieniche delle aziende di produzione primaria nelle quali viene prodotto il latte utilizzato per la preparazione del gelato nelle agrigelaterie, si è voluto individuare eventuali criticità, dipendenze, e formulare ipotesi sulla loro natura. Sono stati valutati aspetti igienico-strutturali sia relativi all'azienda *stalla* (lettiera, abbeveratori, aeratione, benessere animali, ecc.) che all'azienda *trasformazione*. Sono state allestite analisi microbiologiche e chimico-fisiche della materia prima (latte crudo), del semilavorato e del prodotto finito (gelato); in parallelo è stata associata una valutazione in campo delle aziende agricole tramite *check-list*. Le risposte ottenute sono state correlate con i risultati microbiologici, e delle cellule somatiche del latte crudo, mediante analisi statistica utilizzando il test di *Mann-Whitney U* (per le variabili qualitative) e il test di *Spearman rho* (per le variabili quantitative). L'analisi statistica ha potuto correlare i conteggi microbici e quelli delle cellule somatiche solo con alcune delle variabili presenti nelle *check-list*: igiene di stalla, benessere animale, frequenza della sostituzione delle tettarelle,

periodica taratura del *tank*, ed igiene di mungitura. L'analisi chimico-fisica ha potuto confermare la linearità dei valori di pH e attività dell'acqua, paragonabili a quelli riscontrati in letteratura, confermando che il gelato rappresenta un buon substrato alla crescita batterica. Le analisi microbiologiche non hanno evidenziato presenza di agenti patogeni. Sono state altresì riscontrate, in alcune aziende, cariche di enterobatteri e coliformi superiori alle 100 unità formanti colonie/g. Ponendo attenzione all'intera filiera si è voluto individuare eventuali criticità ed i risultati hanno evidenziato come per questo prodotto sia fondamentale il rispetto delle buone pratiche igienico-sanitarie di personale, attrezzature e fasi di lavorazione, quali la pastorizzazione e il mantenimento della catena del freddo. Per quanto concerne l'analisi microbiologica, il mancato ritrovamento di agenti patogeni, in tutte e tre le matrici in esame, fa positivamente presupporre che l'applicazione delle buone pratiche di lavorazione, a partire dalla produzione primaria, sia sufficiente ad impedirne lo sviluppo. Il rischio associato al consumo del gelato, in particolare artigianale, risulta basso se affiancato da tecnologie correttamente eseguite e partendo da materie prime salubri ottenute grazie all'applicazione di pulizia e disinfezione in stalla, e di fabbricazione in agrigelateria.

## C023

### Caratterizzazione della proteasi termostabile AprX in ceppi di *Pseudomonas fluorescens* e impatto sulla shelf-life dei prodotti lattiero-caseari: risultati preliminari

Nadia Andrea Andreani,<sup>1</sup> Lisa Carraro,<sup>1</sup> Luca Fasolato,<sup>1</sup> Stefania Balzan,<sup>1</sup> Rosaria Lucchini,<sup>2</sup> Enrico Novelli,<sup>1</sup> Barbara Cardazzo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biomedicina Comparata ed Alimentazione, Università degli Studi di Padova, Padova; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico delle Venezie, Trento, Italy  
\*barbara.cardazzo@unipd.it

L'attività di proteasi termostabili è stata indicata quale responsabile di degradazione di prodotti lattiero-caseari (quale la gelificazione del latte UHT) con ripercussioni sulla durata della *shelf-life*. Tra le proteasi batteriche coinvolte nei processi di *spoilage* un ruolo preminente sembra averlo la metallo-proteasi termostabile AprX prodotta da diversi ceppi appartenenti alla specie *Pseudomonas fluorescens*. La proteasi AprX, prodotta e rilasciata dai batteri nel latte, essendo resistente al calore (come pure le proteasi endogene del latte) è in grado di mantenere inalterata la propria attività enzimatica anche dopo i trattamenti termici che il latte può subire durante la trasformazione (pastorizzazione, trattamento UHT, caseificazione). Diversi studi hanno identificato e caratterizzato la proteina AprX e il gene che la codifica. Differenze nell'attività enzimatica di AprX in ceppi diversi sono state evidenziate, tuttavia quali siano i ceppi maggiormente produttori non è ancora stato chiarito soprattutto in quanto i metodi di identificazione dei ceppi batterici di *P. fluorescens* basati su caratteristiche fenotipiche non sono molto discriminanti. Nel presente studio sono stati valutati per la presenza del gene *aprX* 68 ceppi isolati da matrici alimentari e 18 ceppi di riferimento appartenenti al gruppo *P. fluorescens*, precedentemente tipizzati mediante metodica *multilocus sequence typing*. Successivamente, un gruppo di ceppi di riferimento sono stati inoculati in latte e l'espressione del gene *aprX* è stata valutata a 22 e a 5°C. Sugli stessi campioni di latte è stata quindi valutata l'attività proteolitica mediante due diversi saggi: 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS), con il quale si valuta la quantità di aminoacidi liberi; e il test azocaseina, che valuta direttamente l'attività proteolitica mediante un saggio colorimetrico. Infine, per valutare l'applicabilità

del saggio azocaseina direttamente su un prodotto lattiero-caseario si è scelta la ricotta industriale. La ricotta industriale viene prodotta utilizzando materie prime (siero di latte e panna) che spesso presentano alte cariche microbiche di *P. fluorescens*. L'allungamento della *shelf-life* della ricotta industriale è strettamente legata alla qualità delle materie prime utilizzate soprattutto a causa di spore ed enzimi termostabili che resistono al processo di produzione. La presenza di *P. fluorescens* e di AprX è stata quindi valutata nelle materie prime (siero di latte e panna) e l'attività proteolitica è stata valutata nella ricotta mediante il saggio azocaseina. I nostri risultati dimostrano la diffusione del gene *aprX* e della proteina AprX nella maggior parte dei ceppi analizzati e l'applicabilità dei saggi TNBS e azocaseina per monitorare l'attività proteolitica nei prodotti lattiero caseari.

## Venerdì 16 settembre 2016

### C024

#### Valutazione dell'attività inibente di oli essenziali di bergamotto su *Listeria monocytogenes*

Stefania Marotta,<sup>\*</sup> Filippo Giarratana, Alessio Parco, Domenico Neri, Graziella Ziino, Alessandro Giuffrida, Antonio Panebianco

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina, Messina, Italy

\*smarotta@unime.it

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la potenziale attività antibatterica *in vitro* di sette oli essenziali di bergamotto (OEB) nei confronti di otto ceppi di *Listeria monocytogenes* diversi per sierotipo e provenienza. In particolare, i singoli ceppi batterici venivano seminati in brodo con 0,6% di estratto di lievito (TSYEB) ed incubati per 24 h a 37°C in modo da raggiungere una densità ottica di 1,2, corrispondente ad una carica batterica di 109 unità formanti colonie/mL. La suscettibilità batterica nei confronti degli OEB è stata testata mediante il metodo per diffusione su piastre di Tryptic Soy Agar con 0,6% di estratto di lievito (TSYEA), disponendo sulla superficie delle stesse (precedentemente seminate con le singole brodocolture) dischetti sterili di carta bibula imbevuti con 15 µL di ciascun campione. Dopo incubazione a 37°C per 24 h, si procedeva alla lettura degli aloni di inibizione che venivano annotati in mm. Gli OEB che mostravano un'attività antibatterica forte o moderata venivano poi testati mediante il metodo delle brodo-diluzioni per valutare la loro concentrazione minima inibente (MIC), definita come la concentrazione più bassa alla quale si registrava l'assenza di crescita microbica. Infine, l'OEB che mostrava la maggiore efficacia veniva sottoposto ad analisi gas-cromatografica secondo la metodica ISO 7609:1985. L'analisi statistica è stata condotta mediante applicazione di test ANOVA ad un fattore. Gli esiti delle prove mostravano grande variabilità. Un ceppo risultava totalmente resistente all'azione di tutti e 7 gli oli testati, 3 mostravano solo una lieve o nessuna sensibilità ed i restanti 4 una suscettibilità variabile. Analogamente, tra i 7 oli testati, soltanto uno mostrava una forte azione antibatterica, però, solo nei confronti di 4 ceppi *target* e una MIC di 0,625 µL/mL; 4 campioni esercitavano un'azione debole, moderata o nulla in tutti i ceppi con MIC oscillanti da 2,5 a 5 µL/mL. Infine, i restanti 2 campioni espletavano un'azione antimicrobica debole o nulla. L'analisi gas-cromatografica dell'olio più efficace rilevava monoterpeni tra i componenti principali (limonene 35,5% e linalile acetato 33,1%), seguiti da terpenoidi in percentua-

le ridotta. L'azione battericida espletata dai terpeni è ormai ben nota e si traduce in alterazioni della parete cellulare che portano alla distruzione del microrganismo. Tuttavia, abbiamo rilevato come tale risposta risulti variabile soprattutto in funzione del ceppo bersaglio ( $P < 0,01$ ) piuttosto che del tipo di olio impiegato ( $P > 0,01$ ) e quindi dei suoi componenti attivi. Nel nostro lavoro solo un OEB ha mostrato un'azione inibente significativa, e comunque soltanto sul 50% dei patogeni saggiati. Di contro, uno dei ceppi risultava totalmente resistente all'azione di tutti gli oli. Da qui la necessità di testare l'efficacia antibatterica degli OEB su un numero significativo di ceppi di *Listeria monocytogenes* al fine di rendere il loro impiego nell'industria alimentare un'efficace alternativa naturale nel controllo del patogeno.

## C025

### Abstract non presentato

## C026

### Screening per la ricerca di batteri lattici in grado di utilizzare gli ossalati

Nicoletta Murru,<sup>1\*</sup> Giuseppe Blaiotta,<sup>2</sup> Maria Francesca Peruzi,<sup>1</sup> Serena Santonocola,<sup>1</sup> Raffaelina Mercogliano,<sup>1</sup> Maria Aponte<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; <sup>2</sup>Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici (NA), Italy

\*murru@unina.it

L'accumulo nell'organismo di ossalato di calcio può costituire un grave problema per l'uomo e gli animali: tali cristalli insolubili si depositano nei reni dove possono indurre ostruzione delle vie urinarie. Diversi microrganismi hanno espresso un'interessante capacità di degradazione di questi sali, ma tra essi raramente si annoverano batteri di interesse alimentare. Onde tentare un ampliamento del ventaglio dei tratti di probioticità convenzionalmente associati all'assunzione di taluni microrganismi, è stata effettuata un'indagine mirata ad evidenziare un'eventuale attività metabolizzante nei confronti degli ossalati in settantatré colture di batteri lattici isolati da alimenti e integratori alimentari ed identificati per approccio molecolare. La maggiore dimensione delle colonie e la presenza di un alone di chiarificazione nei ceppi inoculati per spot su MRS agar arricchito in ossalato di calcio, in riferimento all'aspetto assunto dalle colonie sullo stesso substrato non modificato, ha consentito di eliminare 48 colture. I ceppi selezionati sono stati inoculati in parallelo in MRS brodo base e in MRS brodo modificato per aggiunta di 10 mmol/L di ossalato di sodio e 20 g/L di glucosio. Circa il 68% delle colture testate ha presentato una maggiore crescita in MRS base, piuttosto che in brodo arricchito con ossalato di sodio. Di contro, quattro ceppi hanno registrato una crescita statisticamente superiore in brodo arricchito di sali. In particolare, il ceppo probiotico commerciale *Lactobacillus rhamnosus* GG (LbGG) si è distinto per una crescita e, presumibilmente, un consumo di ossalato relativamente più efficiente ed è stato, pertanto, adoperato per i successivi esperimenti di monitoraggio del consumo di ossalato e glucosio, mediante conta vitale e analisi di cromatografia liquida ad alta prestazione. Un ceppo di *Enterococcus faecalis* è stato impiegato quale controllo negativo. I risultati ottenuti hanno confermato in LbGG un maggiore consumo sia di ossalato, sia di glucosio, e una produzione di acido lattico nettamente maggiore in queste condizioni. Sugli stessi ceppi è stata valutata, poi, l'influenza della concentrazione di glucosio

sull'utilizzazione di ossalato di sodio ripetendo il test con concentrazioni di glucosio variabile. Il consumo di ossalato è risultato più efficiente per contenuti di glucosio crescenti. Privati del monosaccaride, i due ceppi hanno esibito un totale consumo dell'acido citrico accompagnato da una bassa riduzione percentuale di ossalato. Presumibilmente, l'iniziale produzione di formiato, durante la metabolizzazione dell'ossalato, ha un esito deprimente sulla crescita microbica, effetto peraltro già riportato in *Oxalobacter formigenes*, il microrganismo degradatore di ossalati per eccellenza.

## C027

### Valutazione del rischio nel recupero di alimenti ai fini caritativi: dati preliminari

Vesna Milicevic,<sup>1</sup> Giampaolo Colavita,<sup>2</sup> Marta Castrica,<sup>3</sup> Sabrina Ratti,<sup>3</sup> Antonella Baldi,<sup>3</sup> Claudia M. Balzaretto<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Agenzia di Tutela della Salute Città Metropolitana di Milano, Milano;

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute Vincenzo Tiberio, Università del Molise, Campobasso; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

\*claudia.balzaretto@unimi.it

Uno studio recente realizzato dal Politecnico di Milano *Surplus Food Management Against Food Waste* sulla gestione delle eccedenze alimentari e contro gli sprechi alimentari in Italia, rileva che nella filiera agroalimentare italiana le eccedenze ammontano a 5.590.000 tonnellate/anno e la quantità di cibo che ogni anno è sprecata in Italia ammonta a 5.110.000 tonnellate. Nel 2015 le organizzazioni caritative (OC) appartenenti alla rete *Banco Alimentare*, che recuperano e distribuiscono derrate alimentari ai fini di solidarietà sociale, hanno riutilizzato 381.345 tonnellate di prodotti alimentari, provenienti da 2292 donatori, che sono costituiti dal settore primario, industria e grande distribuzione organizzata, i quali rappresentano i principali canali di donazione. Lo scopo di questo lavoro è stato analizzare alcuni aspetti relativi al recupero delle eccedenze in collaborazione con la *Fondazione Banco Alimentare Onlus e Caritas Italiana*. Sono stati sottoposti ad analisi due rilevanti aspetti nella filiera del recupero. *In primis*, è stato analizzato il profilo microbiologico di alcune categorie alimentari recuperate dal settore *catering* con l'obiettivo di valutare la loro conformità rispetto ai criteri di sicurezza alimentare e di processo. A tal fine sono stati analizzati n.11 campioni a tempi differenti: T0, analisi dei campioni all'arrivo in laboratorio; T1, analisi dopo 4 ore dall'arrivo dei campioni in laboratorio, con conservazione dell'alimento ad una temperatura di refrigerazione di 4°C ( $\pm 2$ ); T2, analisi a 24 ore dall'arrivo dei campioni in laboratorio, dopo conservazione dell'alimento ad una temperatura di 4°C ( $\pm 2$ ); T3, analisi dopo 4 giorni di conservazione dei campioni ad una temperatura di -18°C. Su ciascun campione sono stati ricercati i seguenti parametri microbiologici: conta mesofila aerobia totale (AFNOR 3M 01/1-09/89), conta di *Enterobacteriaceae* (AFNOR 3M 01/06-09/97), conta di *Escherichia coli* (AFNOR 3M 01/08-06/01), conta di stafilococchi coagulanti positivi (AFNOR 3M 01/9-04/03 A), conta di *Bacillus cereus* (UNI EN ISO 7932:2005), ricerca di *Salmonella* spp. (UNI EN ISO 6579) e ricerca di *Listeria monocytogenes* (AFNOR BRD 07/4-09/98). Sono state valutate, inoltre, le conoscenze dei volontari sulle corrette prassi igieniche nelle fasi di recupero, ai fini della prevenzione delle malattie trasmesse da alimenti, mediante somministrazione di n.71 questionari. Dall'analisi dei risultati emerge che il recupero degli alimenti provenienti dal *catering* e il loro riutilizzo

presso le OC deve essere accuratamente valutato e programmato nella modalità e nella tempistica, mentre, le conoscenze dei volontari in campo igienico-sanitario risultano essere un fattore di criticità. In conclusione, dai dati emersi si evidenzia che le attività di donazione e di recupero richiedono opportune valutazioni e un'analisi dei rischi accurata, in relazione alla complessità delle attività *no-profit*.

## C028

### Valutazione della presenza e concentrazione di acrilamide in alimenti somministrati attraverso distributori automatici

Naceur Haouet,<sup>1</sup> Simona Pistolese,<sup>1</sup> Raffaella Branciarì,<sup>2\*</sup> David Ranucci,<sup>2</sup> Serena Altissimi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia;

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy

\*raffaella.branciarì@unipg.it

L'acrilamide è un composto neurotossico, genotossico e cancerogeno (IARC) che si origina nella reazione di Maillard dall'interazione tra l'asparagina e alcuni zuccheri riducenti, in particolare glucosio o fruttosio, e che si forma negli alimenti durante il trattamento termico ad elevate temperature, come frittura, cottura alla griglia o al forno. Per la valutazione dell'esposizione, è stato effettuato, su richiesta della *European Food Safety Authority* (EFSA) (raccomandazioni 2007/331/CE e 2010/307/UE), un monitoraggio negli Stati membri dell'Unione Europea sui prodotti alimentari di cui è noto l'elevato tenore di acrilamide e che contribuiscono in misura significativa alla sua assunzione tramite l'alimentazione. Lo studio ha incluso numerosi prodotti che sono regolarmente commercializzati anche attraverso la distribuzione automatica quali patatine, biscotti, merendine e *snacks*. Questi prodotti sono sempre più consumati come pasti occasionali nei luoghi di lavoro e sono alimenti largamente diffusi in considerazione del cambiamento dello stile di vita. Scopo del lavoro è stato quello di valutare il livello di acrilamide nei prodotti alimentari maggiormente presenti nei distributori automatici della città di Perugia. Per poter valutare correttamente le tipologie di alimenti da campionare è stata svolta un'indagine preliminare sulle principali categorie di prodotti presenti nei distributori automatici. Sono risultati maggiormente rappresentati i prodotti di seguito indicati: *snacks* salati (*crackers*, tarallucci, grissini, schiacciatine, ecc.); biscotti (frollini, wafers, ecc.); merendine (treccine, cornetti, pan di Spagna, ecc.); patatine (fiammifero o sfogliate); panini e focacce imbottiti. Sono stati prelevati un totale di 110 campioni presso distributori automatici presenti in vari punti della città di Perugia e sottoposti a determinazione dell'acrilamide mediante un metodo in cromatografia liquida ad alta prestazione-ultravioletta a serie di diodi previa estrazione del campione e successiva derivatizzazione. I risultati hanno evidenziato un'ampia variabilità tra i campioni nel contenuto di acrilamide con un *range* da 0 a 2655 g/kg, a conferma di quanto riportato in letteratura circa le differenze esistenti nel suo contenuto, in relazione alla tecnologia di trasformazione dello stesso prodotto. La categoria con maggiore concentrazione di acrilamide è risultata quella delle patatine in accordo con quanto evidenziato nei dati di monitoraggio indicati dall'EFSA per il periodo 2007-2012 (1000 g/kg) seguita da biscotti e *snacks* salati. Alcuni campioni hanno evidenziato livelli superiori a quelli riportati nella Raccomandazione 2013/647/UE. Si sottolinea come anche i consumatori che si rivolgono a distributori automatici sono esposti al rischio dell'assunzione di elevati

livelli di acrilamide con gli alimenti. Permane quindi la necessità di interventi da parte dell'operatore del settore alimentare per implementare nel proprio sistema di autocontrollo misure appropriate per il contenimento del livello di acrilamide nei processi di produzione e trasformazione dell'alimento.

## C029

### Presenza di pesticidi ed inquinanti organici persistenti in mieli biologici italiani di diverse aree produttive in relazione alla potenziale fonte di inquinamento

Luca Maria Chiesa, Sara Panseri,\* Giuseppe Federico Labella, Francesco Arioli

Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

\*sara.panseri@unimi.it

Il miele e tutti i prodotti derivati dalle api (pappa reale e propoli) sono, nell'immaginario comune, considerati naturali, sani e quindi privi di contaminanti. Tuttavia, oggi, la loro produzione avviene in un ambiente inquinato da diverse fonti. Ne è da esempio l'uso in agricoltura di composti chimici quali insetticidi, fungicidi, erbicidi, pesticidi organofosforati e pesticidi organoclorurati, i quali, permanendo nell'ambiente per tempi più o meno variabili, ne possono causare la contaminazione. Il miele può essere contaminato per via diretta, attraverso le diverse fasi del processo di apicoltura, oppure per via indiretta, dall'ambiente. I contaminanti ambientali possono giungere al miele attraverso aria, acqua, piante e suolo ed essere trasportati nell'alveare dalle api. I prodotti derivati dalle api, tra i quali il miele, sono sempre più consumati come alimento e ad oggi l'interesse dei consumatori è molto orientato verso il consumo di prodotti di tipo biologico. A tal proposito, la Commissione Europea prevede che la qualifica di miele biologico ed altri prodotti dell'apicoltura ottenuti mediante processi di produzione biologica sia strettamente connessa alle caratteristiche dei trattamenti eseguiti alle arnie, così come alla qualità dell'ambiente in termini di contaminazione da composti chimici persistenti. Le contaminazioni derivate da trattamenti dei sistemi agricoli intensivi in determinati areali (es. frutteti intensivi) con pesticidi è un problema emergente e risulta essere un fattore di rischio per la contaminazione di tipo ambientale che deve essere pienamente affrontato ed indagato in particolare nel campo dei sistemi dedicati alle produzioni di tipo biologico. Nel presente lavoro sono state indagate diverse classi di contaminanti in 60 mieli da produzione biologica. In particolare l'attenzione è stata focalizzata nella ricerca di pesticidi organoclorurati, pesticidi organofosforati, policlorobifenili e ritardanti di fiamma. I campioni di miele sono stati analizzati utilizzando la gas-cromatografia accoppiata con la spettrometria di massa tandem a triplo quadrupolo; come metodica estrattiva si è ricorsi alla ottimizzazione mediante estrazione accelerata con solvente seguita da una fase di *clean-up* mediante estrazione su fase solida. La maggior parte dei campioni di miele conteneva almeno uno dei pesticidi, anche se le concentrazioni riscontrate erano inferiori al rispettivo limite massimo di residuo. Diazinone, Mevinfos, Coumaphos, Clorpirifos e Quinoxifen erano i residui più frequentemente riscontrati in campioni provenienti da areali caratterizzati da presenza di meleti ed agrumeti di tipo intensivo. I risultati del presente studio contribuiscono inoltre a dimostrare che anche nel miele derivato da produzioni di tipo biologico la presenza di residui può essere influenzata dal contesto di contaminazione di una determinata area geografica (in particolare ove vi è la presenza di sistemi agricoli intensivi) confermando

dunque le api e i prodotti dell'alveare come sentinelle adeguate per il controllo delle contaminazioni presenti nell'ambiente (biomonitoraggio ambientale). Il metodo analitico ottimizzato ha dimostrato infine di essere semplice e rapido, richiedendo campioni di dimensioni ridotte ed al contempo permettendo la riduzione efficace di consumo di solventi.

### C030

#### Il consumatore e la scelta del prodotto locale: il caso del Distretto Rurale Riso e Rane

Giovanni Ferrazzi,<sup>1\*</sup> Vera Ventura,<sup>1</sup> Sabrina Ratti,<sup>2</sup> Claudia M. Balzaretto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Economia Management e Metodi Quantitativi, Università degli Studi di Milano, Milano; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

\*giovanni.ferrazzi@unimi.it

L'Italia, con 218 mila ettari, è leader europeo nella produzione risicola e la Lombardia, con circa il 40% degli investimenti a riso, è tra le regioni più vocate. Il progressivo deterioramento della redditività del settore agricolo, in generale, e di quello risicolo, in particolare, ha spinto i diversi *stakeholders* del sistema agroalimentare a studiare soluzioni innovative non solo dal punto di vista del prodotto e delle tecniche di produzione ma anche da quello relativo all'organizzazione e al mercato. In questo scenario, il *Distretto Rurale Riso e Rane* (R&RD) è stato promotore del progetto *Buono, Sano e Vicino*, finanziato dalla Regione Lombardia, con l'obiettivo di sostenere lo sviluppo di innovazione all'interno della filiera risicola. Principale risultato è stata la costituzione di un percorso produttivo e, quindi, di un prodotto interamente tracciato e certificato attraverso l'uso del DNA: il riso Carnaroli a DNA-controllato del R&RD. L'obiettivo del lavoro è quello di verificare l'interesse e la percezione da parte del consumatore di tale prodotto e, più nello specifico, di analizzare le differenti determinanti della qualità complessiva. La realtà produttiva oggetto di studio, rappresentata dal R&RD, conta 62 imprese agricole e una superficie risicola di 2733 ettari. Il prodotto oggetto d'indagine è rappresentato dalla confezione di riso del R&RD a DNA-controllato in vendita presso un importante *player* della grande distribuzione organizzata. A tale scopo è stato predisposto un questionario per valutare, mediante *customer satisfaction analysis*, il *packaging* utilizzato e le informazioni riportate sulla confezione. In particolare, tra gli attributi del prodotto di maggior interesse per lo studio si segnalano: la territorialità, la tradizionalità e la tracciabilità. Complessivamente, tutti i parametri considerati hanno ricevuto valori medi al di sopra di 5, valore che esprime sostanziale indifferenza riguardo al gradimento del prodotto, ed in particolare tutti i termini di raffronto sono risultati *graditi*, fatta eccezione per il colore che è risultato *mediamente gradito*. Dei 60 consumatori intervistati, 40 hanno scelto di posizionare il prodotto in una fascia di mercato medio-alta, 12 nella fascia medio-bassa, 7 nella fascia più alta e solo 1 in quella bassa. Più nello specifico, l'analisi della confezione si è concentrata sul gradimento di ricchezza delle informazioni, chiarezza delle informazioni, *layout*, informazioni merceologiche e certificazione di DNA controllato. Risultati statisticamente significativi si sono ottenuti per il gradimento dell'origine del prodotto e della ricchezza delle informazioni disponibili sulla confezione. Per il *layout*, invece, le statistiche confermano che i consumatori lo percepiscono come un elemento da migliorare. Infine, i risultati indicano una percezione controversa del marchio *DNA controllato*: se per parte dei consumatori risulta elemento che garantisce la tracciabilità e l'identità

territoriale del prodotto, per altri risulta essere un simbolo che rimanda a modificazioni genetiche, generando diffidenza rispetto al prodotto. In conclusione, territorialità e certificazione del prodotto, oltre alle relative informazioni, rappresentano una discriminante positiva nella decisione d'acquisto da parte del consumatore che si trova a dover scegliere tra una molteplicità di prodotti appartenenti alla stessa categoria merceologica.

### C032

#### Genuino e naturale: l'opinione dei giovani consumatori

Stefania Balzan,<sup>1\*</sup> Luca Fasolato,<sup>1</sup> Barbara Cardazzo,<sup>1</sup> Cristiana Penon,<sup>2</sup> Enrico Novelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università degli Studi di Padova, Legnaro (PD); <sup>2</sup>Servizio Igiene degli Alimenti di Origine Animale, Unità Locale Socio Sanitaria 6 Vicenza, Vicenza, Italy

\*stefania.balzan@unipd.it

Sul *packaging* degli alimenti sono frequenti i termini *naturale*, *100% naturale* o simili. Sovente tali indicazioni inducono il consumatore all'acquisto nella convinzione di scegliere un prodotto più sano, più fresco o, in generale, con caratteristiche peculiari. Il lavoro analizza il significato attribuito dai giovani ai concetti di naturale e genuino nell'ambito degli alimenti quotidianamente consumati. La raccolta dei dati è avvenuta somministrando un questionario a un campione di studenti (maschi: n. 314; femmine: n. 349) delle scuole secondarie di secondo grado (Licei, Istituti Tecnici e Professionali) presenti nel territorio di pertinenza dell'ASL 6 in provincia di Vicenza. Gli studenti intervistati hanno affermato di essere abbastanza interessati a temi collegati agli alimenti come dieta e salute, bellezza, ricette e sicurezza alimentare. Il reperimento delle informazioni in merito avviene spesso su siti web e a volte attraverso la televisione. Un terzo degli intervistati ha dichiarato di scegliere e acquistare un alimento soprattutto perché fa bene alla salute ma forma e il colore della confezione rappresentano il secondo motivo di scelta. L'attenzione all'etichetta è soprattutto verso la data di scadenza e l'elenco degli ingredienti, mentre origine geografica, produttore o indicazioni di uso e consumo sembrano essere meno considerate. Non vi sono differenze significative tra maschi e femmine. Le definizioni più frequenti di alimento genuino riguardavano gli effetti sulla salute (*non fa male, fa bene, sano*), l'assenza di prodotti chimici, organismi geneticamente modificati, trattamenti o grassi e zuccheri ma anche l'individuazione di una categoria merceologica (frutta e verdura). Meno frequenti sono i riferimenti alla produzione domestica o biologica. Inoltre, molti studenti non sono stati in grado di dare una definizione di alimento genuino. Alimento naturale è stato invece definito tale se privo di conservanti e coloranti, pesticidi e sostanze chimiche in generale; e chiaramente connotato come prodotto proveniente dalla terra. Le associazioni spontanee al concetto di alimento naturale hanno riguardato il tema della salute (sano, salutare), il metodo di produzione e la provenienza (biologico, biodinamico, km zero, prodotto nel proprio orto); la sicurezza della produzione viene richiamata da pochi intervistati. I dati confermano quanto riportato in letteratura. In generale ciò che è descritto come naturale appare migliore e il consumatore sceglie quel prodotto rispetto ad un altro in cui il richiamo alla genuinità o alla natura non è presente anche quando è identico. Gli studenti però, almeno in modo diretto, non vi attribuiscono una maggior sicurezza igienico-sanitaria. È importante conoscere la rappresentazione che il consumatore ha verso alcuni concetti in quanto possono portare a comportamenti non corretti dal punto di vista igienico che potrebbero essere prevenuti.

## SESSIONE POSTER

Venerdì 16 settembre 2016

### P001

#### Spettroscopia di fluorescenza: uno strumento promettente per differenziare molluschi cefalopodi freschi e decongelati

Serena Meistro,<sup>1\*</sup> Mario Botta,<sup>1</sup> Chiara Porcario,<sup>1</sup>  
Abderrahmane Ait-Kaddour,<sup>2</sup> Marzia Pezzolato,<sup>1</sup>  
Mohammed Loudiyi,<sup>2</sup> Valeria Cosma,<sup>1</sup> Fabrizio Lazzara,<sup>1</sup>  
Angelo Ferrari,<sup>1</sup> Elena Bozzetta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy; <sup>2</sup>VetAgro Sup, Lempdes-sur-Allagnon, France

\*serena.meistro@izsto.it

Lo scopo del lavoro è stato investigare il potenziale di una metodica di spettroscopia di fluorescenza di superficie (FFFS) per identificare lo stato di conservazione, fresco o decongelato, dei molluschi cefalopodi. Presso il mercato ittico di Genova sono stati prelevati, con campionamento casuale semplice, 30 esemplari di polpo comune (*Octopus vulgaris*), catturati nella zona FAO 37. Da ciascun polpo sono stati prelevati 2 campioni di tentacolo, post-spellatura e distacco delle ventose. I 60 campioni ottenuti sono stati suddivisi in due gruppi: 30 sono stati congelati per 104,5 ore a -20°C e successivamente decongelati a 4°C *overnight*; gli altri 30 sono stati mantenuti refrigerati. Tutti i campioni sono stati testati con lo spettrofluorimetro FluoroMax-4 (Jobin Yvon, Horiba, NJ, Stati Uniti): *in primis* i campioni mantenuti refrigerati, a seguire quelli congelati. Gli spettri di emissione dei residui di triptofano e dei residui di nicotinammide adenina dinucleotide (NADH) sono stati registrati con le lunghezze d'onda di eccitazione impostate rispettivamente a 290 e 340 nm. Ogni misurazione è stata eseguita in triplicato. Ciascun campione è stato impiegato sia per l'analisi che per la calibrazione del modello predittivo, mediante la tecnica di validazione crociata *leave-one-out*, che presuppone di escludere dall'esame un campione per volta. Gli spettri ottenuti sono stati normalizzati e i dati relativi all'emissione di fluorescenza nel *range* considerato sono stati analizzati statisticamente mediante *partial least square discriminant analysis*, utilizzando il software MATLAB R2013b (The Mathworks inc., Natic, MA, Stati Uniti) e il PLS- Toolbox v. 7.5 (Eigenvector Research, Manson, WA, Stati Uniti). I campioni sono stati correttamente classificati nell'86,8% considerando gli spettri del triptofano e nel 93% dei casi considerando gli spettri del NADH. I risultati ottenuti suggeriscono che la metodica FFFS può essere considerata uno strumento promettente per ottenere una rapida ed accurata differenziazione tra molluschi cefalopodi freschi e decongelati. Il Regolamento UE 1276/2011 stabilisce che i pesci e i cefalopodi destinati ad essere consumati crudi devono essere sottoposti ad abbattimento termico preventivo nei confronti delle infestazioni parassitarie. Inoltre, gli operatori del settore alimentare possono essere interessati a verificare la rispondenza dello stato di conservazione del prodotto a quanto dichiarato dai fornitori, a scopo di autocontrollo. Si rende perciò necessario disporre di metodi analitici rapidi, robusti ed economicamente vantaggiosi, in grado di identificare lo stato di conservazione di pesci e molluschi. Sin dal 2009 il Laboratorio di Istopatologia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta ha standardizzato, validato ed accreditato il metodo istologico per il riconoscimento dello stato di conservazione del pesce e recentemente ha esteso il campo di applicazione ai pro-

dotti della pesca marinati. Il metodo istologico non è applicabile ai molluschi cefalopodi al fine di identificarne lo stato di conservazione, al contrario della metodica FFFS testata nel presente studio, che può offrire molteplici vantaggi: ad esempio, richiede una minima preparazione del campione e la risposta si ottiene in pochi secondi. Sono necessarie tuttavia ulteriori indagini in merito: in particolare, verranno testate le *performances* del metodo su altre specie di cefalopodi.

Lo studio è stato effettuato grazie al finanziamento del Ministero della Salute, nell'ambito del Progetto IZS PLV 03/11 RC.

### P002

#### Caso di intossicazione da istamina: sindrome sgombroide da consumo di tonno (*Thunnus albacares*) fresco

Clara Ippolito, Sandra Fragassi, Daniela Manila Bianchi,  
Silvia Gallina, Marilena Gili, Lucia Decastelli\*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Centro Regionale per le Allergie e Intolleranze Alimentari, Torino, Italy

\*Lucia.decastelli@izsto.it

Si definisce *sindrome sgombroide* una patologia acuta causata dal consumo di prodotti ittici (fam. *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae*, *Scombrosidae*) ad elevato tenore di istidina. La sintomatologia è provocata dalla degradazione dell'istidina a istamina da parte di microrganismi presenti nell'alimento quando non è rispettata la temperatura corretta di conservazione. I sintomi insorgono da qualche minuto ad alcune ore dopo il consumo dell'alimento alterato e sono rappresentati da eruzioni cutanee, disturbi gastrointestinali, emodinamici e neurologici. Nel Regolamento CE 2073/05 e nel Regolamento UE 1019/13 relativo all'istamina nei prodotti della pesca vengono indicati gli alimenti a rischio con i relativi valori massimi accettabili. In data 15 gennaio 2016 viene segnalato al Servizio Veterinario area B dell'ASL TO1 un sospetto caso di sindrome sgombroide da intossicazione alimentare. Due coniugi dichiarano di aver consumato, il giorno precedente, presso un ristorante sito in Torino, un piatto a base di tonno fresco. I Medici Veterinari dell'ASL TO1 dopo un sopralluogo presso il ristorante hanno effettuato un campionamento di tonno pinne gialle (*Thunnus albacares*). L'alimento, conservato in cella frigorifera a +2°C, si presentava in buone condizioni e i relativi documenti riportavano data di produzione 09.01.2016 e scadenza 19.01.2016. Il campione, ai sensi del Regolamento CE n.2073/2005 e s.m.i., era costituito da nove unità campionarie ed è stato consegnato presso il Laboratorio Controllo Alimenti e Centro Regionale per le Allergie e Intolleranze Alimentari dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Torino. Il laboratorio ha utilizzato per l'analisi di *screening* un metodo interno ELISA qualitativo (Histamine Elisa-Tecna, Trieste, Italia). La prova di conferma è stata effettuata presso il Laboratorio Ricerca Residui dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Torino, mediante un metodo di cromatografia liquida ad alta prestazione-a serie di diodi quantitativo. Entrambi i metodi sono stati validati e accreditati con accordo ISO 17025. Le unità campionarie sono state testate singolarmente. Nelle nove unità campionarie, risultate non conformi allo *screening* e quindi sottoposte alla prova di conferma, è stata rilevata la presenza di istamina a concentrazioni tra 2700-4000 mg/kg. L'identificazione inequivocabile della sostanza è stata fatta mediante spettro ultravioletto-visibile, tecnica ammessa per i controlli ufficiali in ambito di sicurezza alimentare. I livelli di istamina nelle unità campionarie sono risultati circa 10 volte superiori ai limiti di legge:

il Regolamento CE n. 2073/2005 fissa, per i prodotti ittici derivanti dalle famiglie di *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae*, *Scombrosidae*, un tenore massimo di istamina compreso tra 100 e 200 mg/kg (n=9, c=2) per i prodotti freschi e valori compresi tra 200 e 400 mg/kg (n=9, c=2) per i prodotti che hanno subito un trattamento di maturazione enzimatica in salamoia. Le alte concentrazioni di istamina rilevate nel campione prelevato presso il ristorante confermano il sospetto diagnostico di sindrome sgombroide. Sebbene la catena del freddo risultasse rispettata nel locale di somministrazione, ulteriori indagini sono in corso presso gli operatori per la verifica delle fasi precedenti: stoccaggio all'ingrosso e trasporto presso il ristorante potrebbero aver favorito una moltiplicazione microbica anomala e una conseguente rapida formazione di istamina.

### P003

#### Indagine sulla presenza di agenti infettivi virali in prodotti della pesca mediante l'applicazione di saggi molecolari in reazione a catena della polimerasi in tempo reale

Riccardo Bazzardi,\* Maria Caterina Fattaccio,  
Monica Rosaria Molotzu, Laura Marongiu, Antonella Canu,  
Alfonsina Marras, Edoardo Marongiu, Margherita Pisanu

Struttura Complessa Igiene Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreffi, Sassari, Italy

\*riccardo.bazzardi@izs-sardegna.it

L'aumentato consumo dei prodotti della pesca può rappresentare un pericolo per la salute del consumatore a causa della potenziale presenza di microrganismi patogeni che possono determinare tossinfezioni alimentari. È necessario quindi un più accurato controllo dei parametri microbiologici. La maggior parte dei siti di pesca, nella regione Sardegna, si colloca a ridosso di aree marino-costiere ad alto impatto antropico, di conseguenza, l'inquinamento da parte di microrganismi sia batterici che virali a ciclo oro-fecale, rappresenta un serio problema per la salute pubblica. Scopo del presente lavoro è stato quello di determinare la presenza di *Norovirus* genogruppo I (NoV GI) e genogruppo II (NoV GII) e virus dell'epatite A (HAV) in pesci marini pescati nelle zone costiere regionali, concentrando l'attenzione sulle specie ittiche di tipo stanziale e pelagico, per valutarne i principali fattori di rischio virologico. Nel periodo compreso tra gennaio 2014 e dicembre 2015 sono stati collezionati n.25 campioni appartenenti a n.6 specie diverse di pesci teleostei catturati in un areale di sotto costa compreso tra il mar Tirreno Meridionale e il mar di Sardegna. I campioni sono stati prelevati presso i mercati ittici dai Servizi Veterinari delle diverse Aziende Sanitarie Locali territorialmente competenti e trasportati in laboratorio per le procedure di analisi, accompagnati da un verbale di prelievo indicante le informazioni previste. I campioni sono stati successivamente identificati tassonomicamente su base morfologica, mediante chiavi dicotomiche e sottoposti ad indagini molecolari. Per la ricerca del virus dell'epatite A, NoV GI e NoV GII è stato utilizzato il protocollo *one-step* TaqMan *real time reverse transcription-polymerase chain reaction* (PCR) in ottemperanza alla norma ISO/TS 15216-2:2013. Dei n.25 prodotti ittici analizzati, n.2 sono risultati positivi in *real time* PCR per NoV GII (8%). In particolare, nell'anno 2014 è stata determinata la presenza di tale *target* virologico in un campione di *Sparus aurata* e in un campione di *Scomber scombrus*. Non è stata rilevata la presenza del virus dell'epatite A in nessun prodotto ittico. I risultati ottenuti nel presente lavoro, riferiti ad un numero di analisi non statisticamente signifi-

ficativo, sia per numero di esemplari appartenenti alla stessa specie sia per tipologia di specie ittica sottoposta ad analisi, rivelano comunque interessanti dati analitici e per questo richiedono opportune considerazioni. La presenza di NoV GII è stata rilevata in n.2 campioni (8%) di pesce appartenenti a due differenti specie animali che si distinguono per le loro caratteristiche di *habitat* ecologico e nicchia trofica; per tale motivo questo risultato dimostra come la sua presenza sia un problema sanitario rilevante. Il riscontro di NoV GII potrebbe derivare dalla scarsa applicazione delle buone prassi igieniche durante le differenti fasi di lavorazione successive alla pesca. Le fonti di contaminazione sono attribuibili al personale che viene a contatto con il pescato e le attrezzature per la sua lavorazione. I risultati del presente studio si avvicinano alle prevalenze riscontrate da altri autori suggerendo di porre maggiore attenzione ad alcune specie ittiche (ad esempio sgombri) già note per la presenza di contaminanti ambientali. In ultimo l'applicazione di metodi molecolari, come la *real time* PCR, permette una corretta identificazione dei genogruppi di *Norovirus*, fornendo anche un contributo a studi epidemiologici sulla loro diffusione.

### P004

#### Döner Kebab: preparazione di carne o prodotto a base di carne? Valutazione sull'utilizzo di additivi

Gaetano Liuzzo,<sup>1</sup> Roberto Rossi,<sup>1</sup> Federica Giacometti,<sup>2</sup>  
Andrea Serraino,<sup>2\*</sup> Gianfranco Militerno<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Azienda Unità Sanitaria Locale di Modena, Distretto di Carpi, Carpi (MO);

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Ozzano dell'Emilia (BO), Italy

\*andrea.serraino@unibo.it

Il Döner Kebab viene prodotto a partire da carne intera o macinata che viene sottoposta a marinatura con pepe rosso o nero, sale, cipolla in polvere o a pezzi, pezzi di pomodoro o salsa di pomodoro, olio di oliva, succo di limone, aceto, latte o latte in polvere, yogurt e uova per 12 h a 4°C. Dopo la marinatura, il prodotto ottenuto viene modellato conferendogli una forma a cono attorno ad uno spiedo, quindi una volta congelato è distribuito con destinazione alla collettività. In questi prodotti, vengono comunemente impiegati diversi tipi di additivi fra cui E 621 (glutammato monosodico) il quale non figura fra gli additivi autorizzati, ai sensi del Reg.(CE) 1333/2008, per la categoria alimentare di *preparazioni di carne* (carni fresche, incluse le carni ridotte in frammenti, che hanno subito un'aggiunta di prodotti alimentari, condimenti o additivi o trattamenti non sufficienti a modificare la struttura muscolo-fibrosa interna della carne e ad eliminare quindi le caratteristiche delle carni fresche) tra cui è classificabile il kebab sulla base dell'Al. I p 1.15 del Reg.(CE) 853/2004 e del *Guidance document describing the food categories in Part E of Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 on Food Additives*. Risulta quindi importante stabilire l'effettiva appartenenza alla categoria alimentare di *preparazione di carne* del kebab per poter valutare correttamente se l'utilizzo dell'additivo in questione è conforme alla norma in materia di additivi alimentari. A tal fine, sono stati prelevati 8 campioni di kebab congelato presso gli esercizi commerciali di vendita di Döner Kebab presenti nel territorio di pertinenza dell'Azienda Unità Sanitaria Locale di Modena. I kebab campionati erano preparati con carne di: vitello, tacchino, pollo. Al fine di una valutazione istologica dei campioni prelevati, gli stessi sono stati fissati in formalina tamponata al 10% a pH compreso tra 7 e 7,6, per una valutazione istologica. Dopo fissazione, i campioni sono stati disidratati, inclusi in paraffi-

na e tagliati al microtomo in sezioni di 5  $\mu$ , comprendenti fibre tagliate longitudinalmente e trasversalmente. Le sezioni sono state colorate con ematossilina-eosina e osservate al microscopio. Nei preparati erano presenti fibre muscolari striate normali, longitudinali e tagliate perpendicolarmente, eosinofile, parallele, con nuclei allungati periferici e striatura trasversale visibile nella maggioranza dei campi; nelle sezioni trasversali le cellule erano di forma circolare/poligonale. Si presentavano addossate le une alle altre, con scarso o moderato spazio interposto, talvolta occupato da tessuto connettivo di probabile origine endomisiale/perimisiale o anche fasciale. Nel suo insieme il tessuto risultava moderatamente rigonfio, ma la struttura delle fibre muscolari si presentava conservata e solo in alcuni campi le fibre muscolari osservate mostravano segni di frammentazione, giudicati come artefatti comparsi durante il taglio di parti di tessuto più fragili per via del parziale scongelamento. Materiale di forma circolare, grigiastro, probabilmente esogeno, è stato talvolta osservato tra le fibrocellule o nel tessuto fibroso. Si può ragionevolmente affermare e confermare l'appartenenza dei campioni di kebab analizzati come appartenenti a *preparazioni di carne* e come tali alla categoria 08.1.2 del Reg.(CE) 1333/2008. La conseguenza di tale conferma è l'impossibilità dell'impiego dell'additivo E621 nella produzione di questo prodotto alimentare.

## P005

### Studio del livello di contaminazione ambientale da *Listeria spp.* in salumifici della Sardegna

Carlo Pala, Carlo Spanu, Daniele Casti, Maria Paola Serra, Maria Cocco, Lelio Carta, Anna Maria Mocchi, Vincenzo Spanu, Francesca Piras, Christian Scarano,\* Enrico Pietro Luigi De Santis

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italy

\*scarano@uniss.it

La principale fonte di contaminazione da *Listeria monocytogenes* nei prodotti *ready-to-eat* a base di carne è imputabile all'elevata presenza del microorganismo negli ambienti di lavorazione. Obiettivo del presente lavoro è quello di definire la prevalenza di *Listeria spp.* e *L. monocytogenes* negli ambienti del salumificio e individuare quali superfici o attrezzature rappresentino il maggiore veicolo di contaminazione. In due salumifici della Regione Sardegna, a distanza di un mese l'uno dall'altro, sono stati eseguiti tre campionamenti ambientali nel corso della lavorazione. I campioni di superfici a contatto e non a contatto con l'alimento sono stati prelevati da siti scelti in base al concetto di rischio, scegliendo cioè i punti in cui il rischio di contaminazione è più alto. In accordo con l'approccio proposto dall'*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*, nei due stabilimenti si è proceduto al raggruppamento dei siti di campionamento in 3 differenti zone. Zona 1 (rischio maggiore) comprende le superfici a diretto contatto con l'alimento (banchi di lavoro, tritacarne, impastatrice e insaccatrice). Zona 2 (rischio medio) comprende superfici non a contatto ma strettamente adiacenti alla zona 1 (superfici adiacenti i macchinari). Zona 3 comprende tutte le superfici non a contatto (pavimenti, pareti e canalette di drenaggio). Il campionamento delle superfici è stato effettuato mediante l'utilizzo di spugne sterili preinumidite. Su ciascun campione è stata effettuata la ricerca qualitativa di *Listeria spp.* e *L. monocytogenes* (UNI EN ISO 11290/01:2005). Da ciascun campione positivo sono state isolate 5 colonie tipiche e sottoposte a identificazione fenotipica e successiva identificazione di

specie mediante reazione a catena della polimerasi per discriminare *Listeria spp.* e *L. monocytogenes*. Nel corso dei 3 campionamenti eseguiti presso ciascun salumificio sono stati analizzati un totale di 76 campioni ambientali equamente distribuiti nei due salumifici. La prevalenza totale di *Listeria spp.* è stata del 32,89%. Nel salumificio A la prevalenza di *Listeria spp.* era del 50,0%, mentre di *L. monocytogenes* del 42,1%. Nel salumificio B è stata riscontrata esclusivamente la presenza di *Listeria spp.* con una prevalenza del 15,8%. Complessivamente sono state osservate differenze nei livelli di contaminazione dal *Listeria spp.* nelle tre diverse zone di rischio. Nella zona 1 è stata riscontrata con una prevalenza del 30,9 e 23,8% per *Listeria spp.* e *L. monocytogenes*, rispettivamente. Nella zona 2 non sono state riscontrate positività. Nella zona 3 le prevalenze di contaminazione erano rispettivamente del 44,4 e 22,2% per *Listeria spp.* e *L. monocytogenes*. Sebbene con differenze significative nella prevalenza della contaminazione di *Listeria spp.* e *L. monocytogenes* tra i due salumifici, i risultati indicano la presenza di contaminazione in zone a differente livello di rischio. La contaminazione della zona 1 pone un potenziale rischio diretto nell'eventualità che si raggiungano valori in grado di rendere il prodotto non conforme. Le contaminazioni in zona 3 sono indicative di carenze nell'applicazione delle buone pratiche igieniche e buone pratiche di lavorazione, con particolare riferimento al salumificio A, dove sono state riscontrate notevoli carenze strutturali e una non adeguata gestione dei flussi di produzione. I dati ottenuti confermano la necessità di programmare piani di campionamento ambientale, quale utile strumento di verifica in sede di autocontrollo.

## P006

### *Yersinia enterocolitica* nella filiera suinicola: sviluppo di metodologie molecolari per la valutazione del rischio microbiologico

Elisabetta Delibato,<sup>1</sup> Stefano Bilei,<sup>2</sup> Pasqualina Terlizzi,<sup>1</sup> Eleonora Pucci,<sup>1</sup> Federico Capuano,<sup>3</sup> Barbara Bertasi,<sup>4</sup> Guido Finazzi,<sup>4</sup> Sarah Lovari,<sup>2</sup> Marina Nadia Losio,<sup>4</sup> Dario De Medici,<sup>1</sup> Yolande Thérèse Proroga<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Superiore di Sanità, Roma; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici (NA); <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma; <sup>4</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia, Italy

\*yproroga@gmail.com

I dati della *European Food Safety Authority* relativi alla prevalenza di agenti zoonotici, che individuano in *Yersinia enterocolitica* (YE) la terza zoonosi a livello europeo, rappresentano la base su cui costruire programmi di controllo lungo la filiera dei prodotti di origine animale. Nell'ambito di tali programmi e in relazione alla presenza di YE, è necessario avvalersi di metodi rapidi, economici ed automatizzati, considerando che il metodo di analisi di riferimento per la ricerca di questo microorganismo richiede più di 7 giorni. A tale scopo, nel presente lavoro, è stata valutata la presenza di YE patogena nella filiera suinicola utilizzando il metodo *real-time polymerase chain reaction* ISO 18867 (RT-PCRS). Inoltre, considerando che alla specie YE appartengono stipiti caratterizzati da una notevole variabilità negli attributi di virulenza e solo alcuni bio-serotipi sono patogeni per l'uomo e gli animali, il lavoro si è focalizzato sulla caratterizzazione molecolare di differenti geni di virulenza (*ail*, *ystA*, *ystB*, *myfA*, *hrep*, *fes*, *fehD*, *virF*), mediante SYBR *green real-time PCR* (SGRT-PCR). Le piattaforme sono state utilizzate per valutare sia ceppi di YE isolati da campioni clinici, alimentari e ambientali sia campioni prelevati lungo

la filiera suinicola. Sono stati selezionati 153 ceppi di YE, 20 ceppi non-YE e 30 microrganismi non-Yersinia per testare la specificità delle piattaforme *real-time* PCR. Successivamente, 130 campioni, rappresentati da spugnette su carcassa e carne di suino, sono stati analizzati, sia con il metodo ISO 10273 sia con i metodi molecolari, per verificare e caratterizzare la presenza di YE patogena eventualmente presente. I risultati ottenuti dalla correlazione tra i bio-serotipi e i geni target inclusi nelle due piattaforme RT-PCRSG, hanno evidenziato una stretta associazione tra il gene *ail*, considerato indicatore esclusivo di patogenicità, ed il gene *ystA*. Similmente resta confermata l'assenza di questi due geni nei ceppi biotipo 1A *non patogeni*, ma in un ceppo 1A/O:3, isolato dall'uomo sono stati ritrovati i geni *ail*, *ystA* e *myfA*. Relativamente al locus *ystB*, associato ai soli biotipi non patogeni, è stata individuata la sua presenza in due ceppi biotipo 2, O:8 e O:9 e in un due ceppi bio-serotipo 3/O:5 e 1B/O:-. I geni *fes* e *fedD*, codificanti per l'utilizzo del ferro dell'ospite, sono stati riscontrati in stretta sinergia tra loro per la maggior parte dei ceppi diversi dal biotipo 1A. La diffusione del gene *virF* sembra essere correlata al serotipo O:3/2/4. I risultati ottenuti dall'analisi dei 130 campioni, mediante le piattaforme molecolari, hanno evidenziato l'assenza del gene *ail* e la sua correlazione con i geni *ystA* e *virF*. Il 46,92% dei campioni ha mostrato la presenza del gene *ystB*, risultando così positivo alla presenza di YE. I geni *fes* e *fedD* sono stati riscontrati nel 44,96 e 45,38%, confermando un andamento omogeneo rispetto alla presenza di *ystB*. Le metodologie sviluppate hanno permesso sia una rapida identificazione del patogeno sia una sua caratterizzazione nei vari punti della filiera suinicola. I protocolli analitici sviluppati, qualora applicati, potrebbero implementare le attività di sorveglianza allo scopo di stimare in modo concreto il rischio microbiologico associato a questa categoria di prodotti.

*I risultati sono stati ottenuti nell'ambito del progetto IZS ME 01/13 RC.*

## P007

### **Escherichia coli produttori di tossine di Shiga nella filiera suina**

Roberta Taddei, Lia Bardasi,\* Ilaria Fiocchi,  
Maria Francesca Pelliconi, Elena Toschi, Giuseppe Meriardi

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia, Italy

\*lia.bardasi@izsler.it

L'elevata diffusione di fattori di patogenicità di *Escherichia coli* produttori di tossine di Shiga (STEC) in alimenti di origine suina rilevata nel corso del Piano Alimenti 2012-13 della Regione Emilia Romagna ha evidenziato la necessità di approfondire il ruolo della specie suina come possibile serbatoio di STEC. Tra agosto 2015 e marzo 2016 sono stati raccolti 58 campioni di contenuto cecale di suini provenienti da 13 allevamenti situati nelle province di Bologna, Modena, Reggio Emilia, Rovigo, Cuneo, Brescia, Mantova. La presenza di STEC è stata inoltre indagata su 69 matrici alimentari di origine suina prelevate sul territorio regionale nel corso del 2015. La ricerca degli STEC è stata effettuata secondo le norme ISO 13136:2012-EURL VTEC *Method* 04 Rev1. Dei 58 campioni di contenuto cecale esaminati, 50 (86,2%) sono risultati positivi per la presenza del gene *stx2*, 2 (3,5%) per la presenza del gene *stx1*, nessuno per entrambi; in 42 (72,4%) di questi tali geni sono risultati in associazione con il gene *eae*. Da 3 campioni risultati positivi al solo gene *stx* si è proceduto alla ricerca unicamente del sierogruppo O104, da 19 campioni risultati positivi a *stx* e *eae* si è proceduto alla ricerca di tutti i 6 sierogruppi. Il sierogruppo rilevato con

maggior frequenza è risultato l'O145 (14/19; 73,7%), seguito dai sierogruppi O103 (13/19; 68,4%), O26 (12/19; 63,2%), O157 (10/19; 52,6%), O104 (7/22; 31,8%) e O111 (5/19; 26,3%). I campioni presentano positività multiple nei confronti dei geni associati ai sierogruppi testati: il 73,7% risulta positivo ad almeno due sierogruppi, 52,6% ad almeno tre, 47,4% ad almeno quattro, 36,8% ad almeno cinque, mentre 21,1% dei campioni è risultato positivo a tutti i sei sierogruppi testati. Sono stati isolati 6 ceppi di STEC (*stx1* o *stx2*), 2 ceppi di *E. coli* caratterizzati dalla sola presenza del gene *eae*, 8 ceppi di *E. coli* appartenenti ad uno fra i sierogruppi testati ma privi di fattori di virulenza. Delle 69 matrici alimentari esaminate, sono risultati potenzialmente contaminati da STEC 16 campioni (23,2%), di cui 11 (15,9%) contaminati da STEC in presenza del gene *eae*. Il sierogruppo rilevato con maggior frequenza è risultato O157 (9/11; 81,8%), seguito da O145 (8/11; 72,7%), O26 (7/11; 63,6%), O103 (6/11; 54,6%), O111 (1/11; 9,1%), O104 (0/16). Come precedentemente rilevato i campioni presentano positività multiple nei confronti dei geni associati ai sierogruppi testati: il 56,3% risulta positivo ad almeno due sierogruppi, il 25,0% ad almeno tre sierogruppi, il 6,3% ad almeno quattro sierogruppi, nessuno è risultato positivo a 5 o 6 sierogruppi. In 4 campioni è stato raggiunto l'isolamento del ceppo STEC (25,0%) sempre caratterizzato dall'assenza del gene *eae*. A fronte delle numerose positività multiple, sono stati isolati ceppi STEC con il solo fattore di virulenza *stx* oppure ceppi di *E. coli* appartenenti ad un sierogruppo non caratterizzati dalla presenza di altri fattori di virulenza. Questo studio conferma l'elevata diffusione nella filiera suina dei fattori di virulenza e dei sierogruppi testati. Dai dati disponibili non si può escludere che il suino abbia un ruolo significativo come serbatoio di STEC. Sebbene non siano stati isolati ceppi riconosciuti in grado di provocare nell'uomo episodi gravi di malattia quale la sindrome uremico emolitica, studi più approfonditi sono necessari per definire il ruolo del suino nell'epidemiologia delle patologie da STEC nell'uomo.

## P008

### **Rilevazione di soia non dichiarata in preparazioni di carne: metodiche immunoistochimica e immunoenzimatica a confronto**

Serena Meister,\* Silvia Gallina, Katia Varello, Marzia Pezzolato,  
Danila Raffaella Francese, Sandra Fragassi, Daniela Manila Bianchi,  
Lucia Decastelli, Elena Bozzetta

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta,  
Torino, Italy

\*serena.meistro@izsto.it

Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare le *performances* di una metodica immunoistochimica nel rilevamento di proteine della soia in preparazioni a base di carne, confrontandole con quelle di un kit ELISA commerciale. Utilizzando un campione di hamburger di soia prelevato in commercio (contenente il 55% di proteine di soia) sono stati preparati tre campioni di carne macinata di bovino, contenenti rispettivamente 1, 5 e 10% di proteine della soia; i campioni positivamente sono stati suddivisi in due aliquote ed esaminati mediante metodica immunoistochimica ed ELISA. I campioni sono stati fissati in formalina tamponata al 10%, inclusi in paraffina, tagliati al microtomo e testati secondo un protocollo immunoistochimico ottimizzato presso il Laboratorio di istopatologia che prevedeva assenza di smascheramento antigenico ed utilizzo di anticorpo primario policlonale anti-proteine della soia (S 2519; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Stati

Uniti) diluito 1:1000. Come controlli positivi di reazione immunoistochimica sono stati impiegati campioni di muscolo contenenti proteine della soia; i controlli negativi sono stati preparati a partire da carne fresca macinata di bovino. Tutti i campioni sono stati osservati al microscopio ottico con obiettivi ad ingrandimento crescente. In parallelo i campioni sono stati analizzati con il kit ELISA Ridascreen® FAST Soya (r-biopharm AG, Darmstadt, Germania), metodo immunoenzimatico, validato ed accreditato dal laboratorio Controllo Alimenti, che nel processo di validazione ha evidenziato *performances* con un limite di rivelabilità pari a 5 ppm. In tutti e tre i campioni è stato possibile riscontrare positività specifica sia all'esame immunoistochimico sia all'ELISA. L'aggiunta di proteine di origine vegetale in preparazioni a base di carne viene oggi praticata per motivi tecnologici ed economici ed è consentita, purché sia indicata in etichetta (Regolamento UE 1169/2011). Le proteine della soia sono allergeni alimentari e quindi possono costituire un rischio, anche elevato, per i consumatori allergici. Se tale aggiunta non viene dichiarata in etichetta occorre perciò considerare che essa potrebbe costituire un problema sanitario. Storicamente i test ELISA rappresentano i metodi analitici più impiegati al fine di svelare gli allergeni alimentari. Per valutare l'effettiva possibilità di utilizzare l'immunoistochimica come metodica per la rilevazione di proteine della soia, saranno necessari ulteriori studi che ne verifichino le *performances*. Data la mancanza di dati bibliografici che specificano a quali livelli di contaminazione i campioni contaminati risultano positivi con il metodo immunoistochimico, lo studio proseguirà con l'allestimento di campioni positivamente contaminati con concentrazioni di proteine della soia più basse. Ciò allo scopo di determinare fino a quali concentrazioni sia ancora possibile evidenziare la positività immunoistochimica. I risultati preliminari ottenuti nel presente studio suggeriscono come l'immunoistochimica possa essere una metodica altrettanto promettente per quanto riguarda l'individuazione di proteine della soia non dichiarate in preparazioni e prodotti a base di carne.

Lo studio è stato effettuato grazie al finanziamento del Ministero della Salute, nell'ambito del Progetto IZS PLV 17/12 RC.

## P009

### Criticità nell'analisi di aflatoxina B1 in mangimi per animali in lattazione contaminati al limite di legge

Sonia Lo Magro,<sup>1</sup> Antonio Armentano,<sup>1</sup> Simona Summa,<sup>1</sup> Giovanni Muscarella,<sup>2</sup> Donatella Nardiello,<sup>3</sup> Marilena Muscarella<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Puglia e Basilicata, Foggia; <sup>2</sup>Servizio Veterinario Area C, Azienda Sanitaria Locale di Foggia Nord, Foggia; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, degli Alimenti e dell'Ambiente, Università degli Studi di Foggia, Foggia, Italy

\*marilena.muscarella@izspb.it

L'esposizione da aflatoxine attraverso gli alimenti nell'uomo e negli animali è un problema, nell'ambito della sicurezza alimentare, ben conosciuto, ma sempre attuale. Le condizioni climatiche verificatesi in Italia nel corso dell'estate 2015, caratterizzate da una prolungata siccità, hanno determinato un'accresciuta contaminazione da aflatoxine nelle produzioni di mais e latte. Questo, oltre a rappresentare un grave problema di sanità pubblica per gli effetti cancerogeni e mutageni delle aflatoxine, è fonte di gravi danni economici per gli allevatori. I limiti per l'aflatoxina B1 nei mangimi sono fissati nel Reg. 574/2011/CE e variano da 0,005 a 0,020 mg/kg nelle varie formulazioni destinate alle differenti produzioni. Stabilire la conformità o la non conformità per la presenza di aflatoxina B1 in campioni di mangimi richiede particolare attenzione quando si ottengo-

no concentrazioni prossime al limite di legge più basso. Nel presente lavoro sono presentate due analisi di campioni di mangimi per animali in lattazione in cui è stato effettuato un confronto analitico inter-laboratorio nel primo caso, ed intra-laboratorio nel secondo caso (diversa strumentazione ed operatori). Per l'analisi dei campioni di mangimi è stato adoperato un metodo analitico, basato sull'uso della cromatografia liquida ad alte prestazioni con rivelazione fluorimetrica e derivatizzazione fotochimica post-colonna, accreditato e validato in accordo ai vigenti regolamenti europei. Il primo campione (mangime completo per vacche da latte) è stato analizzato sia dal nostro laboratorio e sia dal Centro di Referenza Nazionale per le Micotossine dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS). Si sono ottenuti due risultati confrontabili (0,008±0,001 mg/kg del nostro laboratorio, e 0,0063±0,0006 mg/kg dell'ISS) che hanno stabilito la non conformità del campione. L'analisi del secondo campione (mangime complementare per pecore da latte), prelevato in un'azienda agricola della provincia di Foggia, è stata effettuata da tre diversi operatori, poiché il primo valore è risultato pari a 0,005 mg/kg. I valori ottenuti, confrontabili tra loro con la correzione dell'incertezza di misura, hanno evidenziato una maggiore variabilità analitica rispetto a quella riscontrata in fase di validazione. Dai due casi riportati emerge la difficoltà nel definire la non conformità per campioni di mangimi contaminati da aflatoxina B1 a concentrazioni al limite più basso di legge (0,005 mg/kg). Pertanto, sarebbe auspicabile effettuare prove di validazione su campioni realmente contaminati e non su additivi *in house* e allo stesso tempo stabilire dei protocolli con l'ISS per il calcolo dell'incertezza di misura al fine di consentire uniformità nel controllo ufficiale ed evitare variabilità nel giudizio di conformità. L'incertezza di misura calcolata dal nostro laboratorio tiene conto di tutte le variabili relative alle varie fasi del procedimento analitico, ma non è in grado di prevedere quelle dovute al campionamento e all'omogeneizzazione del campione.

## P010

### Caratteristiche microbiologiche di un formaggio a pasta filata da latte crudo ovino confezionato sottovuoto

Giuliano Palocci,<sup>1</sup> Carmela Tripaldi,<sup>1</sup> Nicla Marri,<sup>2\*</sup> Daniela Patriarca,<sup>2</sup> Patrizia Pietrini,<sup>2</sup> Carlo Boselli,<sup>2</sup> Gilberto Giangolini,<sup>2</sup> Simonetta Amatiste<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Centro di Ricerca per la Produzione delle Carni e il Miglioramento Genetico, Roma; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana M. Aleandri, Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti Derivati degli Ovini e dei Caprini, Roma, Italy

\*nicla.marri@izslt.it

Il presente lavoro si propone di valutare l'effetto della conservazione sottovuoto sulle caratteristiche microbiologiche di un formaggio a pasta filata ottenuto da latte ovino crudo. Le prove di caseificazione sono state eseguite presso un caseificio del comune di Roma. Il formaggio a pasta filata, del peso di circa 50 g, era destinato ad essere consumato come *snack*. Dopo la salatura è stato mantenuto a +4°C per alcune ore per ridurre il contenuto di umidità. Quindi il prodotto è stato avvolto in un imballo innovativo per alimenti, costituito da carbonato di calcio (Arcadia SpA, Sedegliano, Italia), e messo sottovuoto. L'imballo, aderendo perfettamente al formaggio, riduce le zone di ristagno di umidità e aria che, durante la conservazione, sono responsabili della crescita di lieviti e muffe. I campioni di formaggio sono stati conservati fino a 40 giorni a temperatura di refri-

gerazione. Sul latte, sulla cagliata, e sul formaggio ai giorni T0, T20 e T40 di conservazione, sono state eseguite le seguenti analisi: carica mesofila totale (CMT), coliformi, *Escherichia coli* beta-glucuronidasi positivo (*E. coli*), enterobatteri, stafilococchi coagulasi positivi (SCP), lieviti, muffe, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Sono state anche eseguite sui formaggi: umidità, proteine e grasso tramite spettroscopia infrarosso (IR) (Foodscan, Fosselectric, Danimarca). *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. sono risultati assenti in tutte le tipologie di campionamento (latte, cagliata e formaggio). Enterobatteri, SCP, *E. coli* e coliformi, seppure presenti nella cagliata [rispettivamente: 5,6, 3,1, 2,3 e 2,5 log<sub>10</sub> unità formanti colonie (UFC)/g], non sono stati rilevati nei formaggi. La CMT aumenta durante la conservazione: da 6,6 log<sub>10</sub> UFC/mL nel latte di partenza sino a 9,1 log<sub>10</sub> UFC/g nel formaggio a T40. Il contenuto massimo di lieviti e di muffe è stato riscontrato nella cagliata (rispettivamente 5,5 e 4,0 log<sub>10</sub> UFC/g), mentre nei formaggi sono risultati assenti a T0 e presenti a T20 (lieviti: 3,2 log<sub>10</sub> UFC/g; muffe: 2,8 log<sub>10</sub> UFC/g) e T40 (lieviti: 2,8 log<sub>10</sub> UFC/g; muffe: assenti). I valori medi di umidità, proteine, grasso determinati sul formaggio sono risultati rispettivamente: 50, 24,2 e 22,3%. Il confezionamento sottovuoto, associato a un imballaggio innovativo, è risultato un sistema efficace per ridurre l'incremento dei microrganismi indesiderabili durante la conservazione di un formaggio a pasta filata tipo *snack*.

## P011

### Poster non presentato

## P012

### Microflora lattica caratteristica di formaggi sottoposti a processi di fusione

Daniele M. Nucera,<sup>1</sup> Marco Ortoffi,<sup>2</sup> Patrizia Morra,<sup>2</sup>  
Maria Ausilia Grassi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali ed Alimentari, Università degli Studi di Torino; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO), Italy

\*auxilia.grassi@unito.it

I batteri termodurici sono microrganismi gram-positivi caratterizzanti normalmente la filiera latte, in grado di sopravvivere ai trattamenti a cui gli alimenti sono sottoposti e responsabili di fenomeni alterativi che compromettono la qualità e riducono la *shelf-life* del prodotto. Lo scopo di questa ricerca è stato analizzare la filiera produttiva di formaggi fusi (dalle materie prime al prodotto confezionato) per evidenziare specie termoduriche caratterizzanti. I campioni sono stati tutti prelevati da uno stabilimento di trasformazione situato in provincia di Cuneo (Piemonte). Lo stabilimento è stato visitato tre volte in un anno. In ogni sopralluogo si sono prelevati: latte crudo (200 mL), latte pastorizzato (200 mL), panna pastorizzata (200 mL), Gouda, Cheddar, Emmental (200 g ognuno) e, infine, 12 confezioni di formaggi prodotti con le materie prime campionate. I formaggi sono stati campionati solo al primo sopralluogo perché le materie prime dei formaggi prodotti in tutti e tre i momenti di visita. I campioni sono stati analizzati con metodica quantitativa usando terreni agarizzati selettivi (MRS e M17) e sottoponendo le soluzioni madre a preventiva termizzazione. A seguito dei conteggi, si sono prelevate 5 colonie per campione (dove possibile); queste sono state utilizzate per l'estrazione del DNA, amplificato utilizzando primers specifici per il 16s rDNA. Gli ampliconi sono stati sequen-

ziati e confrontati con le sequenze presenti nelle banche dati *online* (mediante l'utilizzo del software BLAST®-Basic Local Alignment Search Tool; National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD, Stati Uniti). I conteggi microbici hanno evidenziato come le cariche su tutte le materie prime fossero elevate (106 nel caso della panna). Tuttavia, esse subiscono una brusca riduzione nei formaggi, dove, solo relativamente ad un campionamento, è stato possibile ritrovare su MRS cariche di 8x10<sup>3</sup> mentre in tutti i restanti campioni non si sono ritrovate più di 100 unità formanti colonie/g. I risultati hanno rivelato la presenza di generi come *Bacillus* (N=9), *Corynebacterium* (N=2), *Enterococcus* (N=2), *Lactococcus* (N=3), *Lactobacillus* (N=4), *Leuconostoc* (N=5), *Micrococcus* (N=1) e *Staphylococcus* (N=28), in linea con quanto riportato in letteratura. Nonostante l'approccio di filiera, l'unico microrganismo presente sia nelle materie prime che nei formaggi è risultato *Staphylococcus cohnii*. I conteggi microbici hanno evidenziato come le cariche microbiche termoduriche sulle materie prime non costituiscano un'evenienza infrequente. Per la produzione di formaggi, le materie prime vanno incontro a successivo trattamento a temperature molto elevate (130°C), pur se per un tempo molto breve, nella fase di pre-confezionamento; questo, pur portando ad una riduzione della flora, non impedisce la sopravvivenza dei generi termodurici, che, durante la *shelf-life* del prodotto possono moltiplicarsi e produrre alterazioni. È necessario quindi adottare dei sistemi di riduzione delle cariche microbiche già in stalla. Per questo motivo, per ottenere un prodotto fuso di ottima qualità e stabilità è necessario che il piano di autocontrollo dell'impianto trasformatore sia affiancato da un'efficace applicazione di autocontrolli aziendali dei conferenti, enfatizzando come anche per i formaggi sia necessario un controllo integrato di filiera per evitare fenomeni alterativi legati alla flora termoresistente e responsabili della maggior parte delle perdite economiche per i produttori di questo alimento.

## P013

### Caratterizzazione molecolare di ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati da latte e cagliate caprini

Francesco Chiesa,<sup>1\*</sup> Marco Rossi,<sup>1</sup> Daniela Dezzutto,<sup>2</sup>  
Daniele Pattono,<sup>1</sup> Maria Silvia Gennero,<sup>2</sup> Tiziana Civera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Torino; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy

\*francesco.chiesa@unito.it

I sistemi zootecnici caprini del Piemonte rappresentano un'importante realtà da difendere sul piano sanitario, in modo da valorizzarne le produzioni: tra questi i formaggi a latte crudo rappresentano uno sbocco interessante nei mercati, inclusa la cosiddetta filiera corta. Per garantire e migliorare la qualità dei formaggi sono necessari interventi di razionalizzazione del *management* aziendale, con particolare riguardo all'allevamento e all'igiene delle produzioni. *Staphylococcus aureus* (SA) è il principale agente responsabile di mastiti cliniche e subcliniche nei ruminanti. Può contaminare gli alimenti ed in particolare i prodotti lattiero caseari, dove, da sempre, è uno dei più importanti agenti causali di tossinfezione e oggi assume ancora maggiore importanza, in considerazione della sempre maggior diffusione di ceppi resistenti agli antimicrobici. Lo scopo di questo lavoro è stato di valutare la variabilità genetica, tramite caratterizzazione biomolecolare, dei ceppi di SA circolanti nella popolazione caprina, attraverso l'analisi del latte, la loro persistenza nelle cagliate

e le differenze tra i ceppi presenti nelle due matrici. Sono stati analizzati 22 ceppi di SA isolati da latte e 23 da cagliata, destinati alla produzione di formaggi a latte crudo, derivanti da 5 allevamenti della zona dell'astigiano. I campioni di latte sono stati prelevati da singoli capi e da cagliate campionate in fase di produzione. L'isolamento dai campioni di latte è stato effettuato presso il laboratorio Struttura Complessa di Sierologia dell'Istituto Zooprofilattico del Piemonte e Valle d'Aosta, nell'ambito di un progetto sullo studio degli agenti mastidogeni nella popolazione caprina. L'isolamento dalle cagliate, la conferma e la caratterizzazione biomolecolare sono, invece, state eseguite presso il laboratorio del settore di Ispezione degli Alimenti del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Torino. Per la conferma è stata eseguita una reazione a catena della polimerasi con amplificazione di un frammento specifico dell'RNA ribosomiale 23S dello SA, mentre la caratterizzazione è stata effettuata mediante *spa typing*. Sono stati identificati 13 diversi *spa types*: è stata evidenziata una maggiore variabilità tra gli *spa types* identificati nelle cagliate, rispetto a quelli identificati nel latte: 4 dei 6 *spa types* rinvenuti nel latte appartengono ai clonal complex (CC) 130 e 133, tipicamente associati alle specie ovi-caprine; tra i 10 *spa types* rinvenuti nelle cagliate, invece, 7 sono stati isolati solo da questa matrice ed uno, in particolare, il T002, appartiene al CC5, particolarmente noto in medicina umana, perché frequentemente associato ad infezioni e, tipicamente, a profili di resistenza antimicrobica. Nelle produzioni a latte crudo una gestione non ottimale delle prime fasi del processo produttivo, prima che le modificazioni chimico-fisiche che intervengono nelle fasi successive rendano l'ambiente meno favorevole alla crescita dei patogeni, può determinare un rischio per il consumatore. L'ampia variabilità di *spa types* rilevata nelle cagliate suggerisce l'introduzione di ceppi di SA in seguito alla manipolazione del prodotto, durante le fasi di produzione. La presenza di alcuni *spa types* associati a CC frequentemente coinvolti in infezioni, tossinfezioni e fenomeni di resistenza antimicrobica, rende ancora più importante il miglioramento delle buone prassi di allevamento e di lavorazione negli ambienti di caseificazione.

## P014

### Un caso di sindrome emolitico-uremica da *Escherichia coli* O26 verocitotossico conseguente al consumo di formaggi tradizionali rumeni

Paola De Santis,<sup>1\*</sup> Sarah Lovari,<sup>1</sup> Bianca Maria Varcasia,<sup>1</sup>  
 Laura De Santis,<sup>1</sup> Francesco Tomassetti,<sup>1</sup> Rita Tolle,<sup>1</sup>  
 Fabiola Di Giamberardino,<sup>1</sup> Paola Marconi,<sup>1</sup> Lucia Guazzini,<sup>1</sup>  
 Sara Spagnul,<sup>1</sup> Stefano Morabito,<sup>2</sup> Antonella Maugliani,<sup>2</sup>  
 Paola Chiani,<sup>2</sup> Fabio Minelli,<sup>2</sup> Cinzia Sampieri,<sup>1</sup> Stefano Bilei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e Toscana M. Aleandri, Roma;  
<sup>2</sup>Laboratorio Nazionale ed Europeo di riferimento per *Escherichia coli*, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italy  
 \*paola.desantis@izslt.it

In Romania, il 9 e 10 febbraio 2016, l'Istituto Nazionale di Salute Pubblica segnala un focolaio di sindrome emolitico uremica (SEU) iniziato il 25 gennaio 2016 che coinvolge 12 bambini sotto ai 2 anni d'età; al 29 febbraio i casi riportati sono 15. Il 5 aprile la *European Food Safety Authority* in collaborazione con lo *European Centre Disease Prevention and Control*, riporta 25 casi di malattia di cui 19 esitati in SEU e 3 deceduti, connessi al focolaio segnalato dalle autorità rumene e associato a infezione da *Shiga Toxin-Producing Escherichia coli* O26 (STEC O26). Nel corso delle indagini epidemiologiche del focolaio in Romania, le autorità sospettano come sorgente

d'infezione il consumo di formaggi prodotti da una specifica ditta, che provvede al ritiro volontario del prodotto in Romania, ma non in altri paesi dell'UE. I prelievi eseguiti sui formaggi in Romania, tuttavia, non confermano la correlazione epidemiologica tra l'alimento e il focolaio di SEU. In Italia l'Ospedale Meyer di Firenze notifica il 14 marzo un caso di SEU in un bambino di 14 mesi. Il siero del bambino ricoverato risulta positivo alla ricerca di anticorpi anti-lipopolisaccaride per *Escherichia coli* O26, confermando l'infezione da STEC O26. I genitori riferiscono che il 5 marzo la famiglia (4 persone) ha consumato alcuni formaggi importati dalla Romania, acquistati a Firenze presso una rivendita di prodotti tipici. Le autorità sanitarie italiane, provvedono a campionare il residuo del pasto, che è stato analizzato contemporaneamente dal Laboratorio Nazionale ed Europeo di riferimento per gli *E. coli* (EURL-VTEC) e dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e Toscana M. Aleandri (IZSLT), e dal quale viene isolato, in entrambi i laboratori, un ceppo *E. coli* O26 con i geni di virulenza *vtx1*, *vtx2* ed *eae*. Contemporaneamente, un ceppo STEC O26, isolato presso EURL-VTEC dalle feci della madre del bambino, è risultato correlato, mediante elettroforesi su gel a campo pulsato (PFGE), a un ceppo isolato dal formaggio residuo del pasto. Successivamente, sono stati esaminati ulteriori 37 campioni di prodotti a base di latte, di cui 36 appartenenti a 11 diverse tipologie della stessa ditta e 1 appartenente a una seconda ditta, in confezioni originali, prelevati dall'Azienda Sanitaria Locale di Pistoia e Firenze presso un grossista, ad eccezione di due campioni prelevati direttamente alla vendita al dettaglio. Da 3 dei 37 campioni analizzati sono stati isolati ceppi di *E. coli* O26 positivi per *vtx1*, *vtx2* ed *eae*, mentre in altri 3 campioni la reazione a catena della polimerasi in tempo reale ha rilevato la presenza degli stessi geni di virulenza, e dei geni associati a diversi sierogruppi STEC (O103, O111, O145 e O157), non confermata nelle colonie di *E. coli* isolate. Tutti i campioni positivi appartengono alla stessa tipologia di prodotto e a diversi lotti di produzione. Uno dei ceppi STEC O26 isolati da questi ultimi campioni ha prodotto profili PFGE correlati a quelli isolati dal residuo del pasto e dalla madre del caso. I risultati di laboratorio eseguiti nell'ambito dell'indagine epidemiologica hanno confermato che il caso di SEU in Italia era collegato al focolaio rumeno. Questo lavoro sottolinea l'importanza dell'indagine di laboratorio e della tipizzazione molecolare degli stipti STEC. La correlazione tra i profili molecolari dei ceppi STEC isolati dai pazienti e dagli alimenti sospetti, infatti, può permettere di limitare l'esposizione dei consumatori all'agente patogeno attraverso l'identificazione della sorgente dell'infezione.

## P015

### Caratterizzazione microbiologica di mieli di corbezzolo prodotti e commercializzati in Sardegna

Tiziana Tedde,<sup>\*</sup> Giovanni Terrosu, Maria Teresa Uda,  
 Margherita Pisanu, Edoardo Marongiu, Antonio Fadda,  
 Sebastiano Virgilio

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Struttura Complessa Igiene degli Alimenti, Sassari, Italy  
 \*tizianatedde@gmail.com

Lo scopo del lavoro è stato quello di effettuare uno studio sulle caratteristiche microbiologiche di alcuni mieli di corbezzolo di produzione regionale e fornire un contributo alla valutazione del rischio da batteri sporigeni. Nel periodo compreso tra dicembre 2015 e febbraio 2016 sono stati sottoposti ad indagini microbiologiche per la ricerca di microrganismi mesofili aerobi, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, tossine botuliniche, lieviti e muffe, *Enterobacteriaceae* e deter-

minazione dell'attività dell'acqua ( $a_w$ ) n. 60 campioni di miele di corbezzolo provenienti da 5 aziende situate in diverse località del Nord-Sardegna. A seguito del riscontro di *Bacillus cereus* in concentrazioni  $\geq 5$  log unità formanti colonie (UFC)/g, su n. 3 campioni provenienti da una azienda è stata inoltre effettuata la ricerca della tossina emetica mediante metodo immunocromatografico e della tossina diarroica con l'utilizzo di un kit del commercio. Nella totalità dei campioni di miele esaminati, la ricerca di *Enterobacteriaceae* e di lieviti e muffe ha sempre dato esito negativo. Relativamente ai batteri sporulati, in nessuno dei campioni è stata riscontrata la presenza di *Clostridium perfringens* e di tossine botuliniche. In n. 9 campioni di miele (15%) provenienti da 3 aziende e appartenenti ai 3 lotti esaminati è stata riscontrata la presenza di *B. cereus*, ad una concentrazione media compresa tra 2,7 e 5,2 log UFC/g; nei campioni provenienti da una stessa azienda in cui è stata rilevata una concentrazione del microrganismo  $> 5$  log UFC/g è stata effettuata inoltre la ricerca delle tossine diarroica ed emetica, con esito negativo. Nei medesimi campioni di miele sono stati, inoltre, isolati microrganismi mesofili aerobi con una carica media compresa tra 1,5 e 7,5 log UFC/g. Relativamente all' $a_w$ , nei campioni provenienti dalle cinque aziende, è stato riscontrato un valore medio di  $0,61 \pm 0,04$ . Sotto il profilo microbiologico, il miele di corbezzolo può essere considerato un prodotto a basso rischio sanitario, se si fa eccezione per la presenza di microrganismi sporigeni potenzialmente patogeni, che in circostanze favorevoli possono replicare e produrre tossine. In alcuni campioni oggetto dell'indagine è stata riscontrata la presenza di *B. cereus* ad una concentrazione media compresa tra 2,7 e 5,2 log UFC/g, potenzialmente in grado di consentire la produzione delle tossine emetica e diarroica, la cui determinazione è tuttavia risultata negativa. I livelli di carica più elevati ( $\geq 5$  log UFC/g), registrati in alcuni campioni di miele, sono probabilmente conseguenti al blando trattamento termico (30-35°C) effettuato sul miele cristallizzato dopo smielatura, che facilita lo sviluppo delle forme vegetative e alla mancata deumidificazione del prodotto prima del confezionamento, che determina un aumento del valore di  $a_w$ . Allo scopo di prevenire la moltiplicazione del microrganismo e la possibile produzione di tossine sarebbe opportuno eseguire tutte le operazioni produttive immediatamente dopo la smielatura, in modo da evitare la cristallizzazione del prodotto e i necessari trattamenti termici successivi; occorrerebbe altresì procedere a un'adeguata deumidificazione del prodotto, particolarmente necessaria per i mieli autunnali, come quelli di corbezzolo. Sempre a scopo preventivo, il prodotto confezionato, soprattutto se sottoposto a precedenti trattamenti termici, dovrebbe essere conservato a temperatura di refrigerazione.

## P016

### L'entomologia forense applicata alla sicurezza alimentare: primi risultati

Francesco Defilippo,<sup>1</sup> Marco Pinna,<sup>1</sup> Sara Savoldelli,<sup>2</sup> Giuseppe Merialdi,<sup>1</sup> Michele Dottori,<sup>1</sup> Paolo Bonilauri<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

\*paolo.bonilauri@izsler.it

Nel mondo globalizzato, alla luce della forte circolazione di materie prime e prodotti finiti in ogni parte del mondo, le infestazioni sono un problema emergente soprattutto nei paesi sviluppati. La datazione dell'infestazione diviene di giorno in giorno più fondamentale al fine di comprendere quale misura di controllo è fallita e prendere la giusta decisione al fine di limitare o eliminare la presenza di artropodi negli

alimenti. La datazione dell'infestazione in campo medico legale è frequente e standardizzata, mentre sono scarsi o pressoché assenti modelli e metodi entomologici forensi sviluppati per la ricerca, la tipizzazione e la datazione di infestazione negli alimenti. Nel 2015 l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna ha avviato un progetto di ricerca (PRC2014004) con il principale obiettivo di colmare questa lacuna. In questo contributo presentiamo i primi dati utili alla costruzione di un modello matematico predittivo per il tempo di sviluppo del Lepidottero Piralide *Plodia interpunctella* (Hübner). L'allevamento è stato realizzato partendo da esemplari di *P. interpunctella* provenienti dai laboratori dell'Università degli Studi di Milano. Le larve ottenute sono state in parte allevate su dieta standard e in parte su cioccolato a temperature costanti (25 e 27°C). Per ogni temperatura di allevamento sono state effettuate 5 repliche (N=200). L'osservazione dello sviluppo larvale e dei parametri di crescita è stato eseguito giornalmente. Per ogni replica e per ogni temperatura di allevamento sono stati valutati gli *accumulated degree days* (ADD) per l'intervallo uovo-pupa e uovo-adulto (con *lower development threshold* pari a 14°C e passaggio di stadio in almeno 80% degli esemplari per replica) e delle curve di crescita larvale secondo Reiter-Grassberger 2001. Differenze medie nel tasso di sviluppo alle diverse temperature e sui differenti substrati di crescita sono state valutate tramite test ANOVA con  $P < 0,05$ . I tempi di sviluppo uovo-pupa e uovo-adulto non differiscono tra le repliche analizzate in tutti gli esperimenti condotti. Gli ADD uovo-adulto calcolati per esemplari allevati su dieta standard sono risultati sempre pari a 299 indipendentemente dalla temperatura di allevamento, mentre per gli esemplari allevati su cioccolato gli ADD sono pari a 494 a 25°C e 481 a 27°C. La minore temperatura di allevamento pare influire maggiormente sugli ADD uovo-pupa in entrambe le diete (247:25°C; 208:27 e 429:25 e 403:27°C dieta standard e cioccolato, rispettivamente). I tassi di sviluppo ottenuti tramite analisi delle curve di crescita delle larve fino allo stadio pupale sono risultati significativamente differenti ( $P < 0,01$ ) tra i due substrati di crescita, mentre nessuna differenza significativa è stata osservata tra 25 e 27°C. L'osservazione degli ADD ha evidenziato la maggiore sensibilità alla temperatura di *P. interpunctella* solo nella fase uovo-pupa causando un accorciamento della fase larvale a 27°C, alla quale però non corrisponde una riduzione della fase pupale. I risultati preliminari ottenuti sono stati molto soddisfacenti poiché è stato possibile evidenziare la correlazione tra la velocità di crescita e il substrato alimentare delle larve, fornendo dei primi dati sperimentali che possono essere applicati in casi reali di infestazione di alimenti, al fine di definire le diverse responsabilità tra i differenti soggetti della filiera produttiva.

## P017

### Ricerca di microrganismi potenzialmente patogeni in chiocciole corritrici ed epifragmate in Sardegna

Sebastiano Virgilio,\* Margherita Pisanu, Andrea Orrù, Arianna Corda, Stefania Brignardello, Laura Mara, Tiziana Tedde, Igor Arras, Edoardo Marongiu, Paola Cogoni

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Sassari, Italy  
\*sebvirgilio@gmail.com

Nell'ambito di uno studio più ampio, finalizzato anche alla valutazione dell'eventuale presenza di contaminanti ambientali e di studi di caratterizzazione qualitativa del secreto mucoso di chiocciole selvatiche autoctone [*Helix aspersa* ed *Helix (Eobania) vermiculata*] della Sardegna, lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'eventuale presenza di agenti microbici di zoonosi a trasmissione ali-

mentare. Nel periodo compreso tra i mesi di settembre 2014 e dicembre 2015, sono stati sottoposti ad indagini microbiologiche per la ricerca di *Listeria monocytogenes* (UNI EN ISO 11290-1: 2005), *Salmonella* spp. (ISO 6579:2008), *Clostridium perfringens* (ISO 7937:2004), *Escherichia coli* O 157:H7 (ISO 16654:2001), *Norovirus* GGI e GGII e virus dell'epatite A (HAV) (*real time-polymerase chain reaction*) n. 46 campioni di chiocciole adulte autoctone selvatiche, spurgate (prima del consumo), appartenenti alle specie *Helix aspersa* (16) e *Helix (Eobania) vermiculata* (30), provenienti dall'intero territorio regionale. I ceppi di *L. monocytogenes* isolati sono stati sottoposti successivamente a sierotipizzazione effettuata dall'analisi crociata dei risultati relativi agli antigeni flagellari H e somatici O mediante l'utilizzo di un kit del commercio e a caratterizzazione biomolecolare mediante ricerca dei principali geni di patogenicità: *rrn*, *hlyA*, *actA*, *inlA*, *inlB*, *iap*, *plcA*, *plcB* e *prfA*. I ceppi di *Salmonella* spp. isolati sono stati sottoposti a sierotipizzazione mediante la determinazione dell'antigene somatico (O), e di quelli flagellari (H) e capsulari (Vi) in accordo con le formule antigeniche elencate nello schema di Kauffmann-White. La totalità dei campioni esaminati è risultata negativa per *C. perfringens*, *E. coli* O157, *Norovirus* e HAV. Sono risultati positivi per la ricerca di *L. monocytogenes* n. 2 campioni di chiocciole della specie *H. aspersa* raccolte nel sud della Sardegna; i ceppi isolati sono risultati appartenere ai sierotipi 1/2a e 4/b-4/e; un ceppo è risultato positivo ai geni di patogenicità *rrn*, *inlB* e *plcA*, l'altro ai geni *rrn*, *hlyA*, *actA*, *inlB*, *plcA*, *plcB* e *prfA*. In un campione di *H. aspersa* è stata inoltre riscontrata la presenza di *Salmonella* spp. e a seguito della sierotipizzazione sono state identificate 2 sub-specie di *Salmonella enterica*: *houtenae* (6,14:z4,z23) e *diazona* (47:k:e,n,z15). La Sardegna è tradizionalmente una delle regioni italiane a maggior consumo di chiocciole, con un quantitativo complessivo annuo stimato di circa 9000 tonnellate, una media regionale di 5,38 kg di chiocciole consumate per abitante, un quantitativo 8 volte maggiore rispetto alla media nazionale. La presenza di *L. monocytogenes* e di microrganismi del genere *Salmonella*, pur rappresentando un fattore di rischio, deve essere correlata alla tipologia di trattamento cui l'alimento viene sottoposto prima del consumo, risultando evidente come una adeguata cottura possa determinare l'eliminazione dei suddetti pericoli. Il rischio sanitario per il consumatore aumenta ovviamente nei casi in cui le preparazioni gastronomiche non prevedano trattamenti di bonifica. Non deve tuttavia essere trascurata la possibilità che, durante l'eventuale manipolazione delle chiocciole negli stabilimenti e nelle cucine, possa verificarsi la contaminazione crociata di altri alimenti che non prevedano un successivo trattamento termico prima del consumo e/o già cotti ed in fase di raffreddamento.

## P018

### Le autorità competenti: dalla Legge 283/62 ai Regolamenti Comunitari

Domenico Mollica,<sup>1\*</sup> Viviana Viola Esposito<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Azienda Sanitaria Locale NA3Sud, Napoli, <sup>2</sup>Tecnico della Prevenzione, Libero professionista, Caserta, Italy

\*domenicomollica@virgilio.it

Negli ultimi anni assistiamo a un conflitto tra le varie autorità sia di sanità sia di polizia generato da una serie di interpretazioni sulle normative concernenti la sicurezza alimentare. Lo scopo di questo lavoro è di esaminare le norme evidenziando come negli ultimi anni sono stati emanati atti che hanno generato confusione tra gli organi di controllo sulle competenze in tale materia. Nel 1962 fu emanata la Legge 283 che disciplinò il controllo degli alimenti e delle bevande

dalla produzione alla somministrazione. Con questa legge ed il successivo regolamento DP327/80, fu sancita la figura di autorità sanitaria, identificata nel sindaco, e le competenze degli organi di controllo, medici e veterinari condotti e vigili sanitari. Il medico o il Veterinario condotto, per le norme allora vigenti, era inquadrato come *Ufficiale di Governo* (art. 4 - Il titolo - DPR. 264/1961) fino alla riforma sanitaria del 1978, Legge 833/78, dove le figure sanitarie, medici igienisti, veterinari e tecnici della prevenzione nell'ambiente e nei luoghi di lavoro, del Sistema Sanitario Nazionale, sono inquadrati anche come ufficiali di polizia giudiziaria. Nel 2007, con il Decreto Legislativo 193, i dipendenti afferenti al Ministero della Salute (ASL, Carabinieri del NAS, ecc.) che hanno competenza di controllo e vigilanza sugli alimenti, vengono designati come autorità competenti, mentre altri organi di Polizia possono elevare sanzioni nelle materie di competenza e nelle specifiche norme di settore (es. guardia costiera nel settore della pesca e non nella somministrazione). Nel 2011 il Ministero della Salute, con il Piano Nazionale Integrato 2011-2014, nel ripetere che il d.lgs 193/07 individua le autorità competenti nel personale di vigilanza ed ispezione afferenti al Ministero della Salute, traccia anche le competenze di sicurezza alimentare di altri organi di polizia come: Carabinieri delle Politiche Agricole e Alimentari, che hanno competenza anche di prevenzione e repressione delle frodi nel settore agroalimentare e nelle sofisticazioni alimentari; Corpo Forestale dello Stato; tra non molto Carabinieri, che hanno attività volte al rispetto della normativa in materia di sicurezza alimentare del consumatore e biosicurezza in genere; Guardia di Finanza, che previene e contrasta le frodi comunitarie anche con riguardo alla tutela degli interessi finanziari comunitari relativi al settore agricolo e della pesca; Capitaneria di Porto, che ha il monitoraggio dei vari stadi nei quali si compone la filiera della pesca, l'etichettatura e la tracciabilità dei prodotti ittici, repressione delle frodi alimentari, commerciali e sanitarie. Con quest'ultimo atto il Ministero ha generato maggiore confusione, utilizzando una terminologia che ha dato motivo di interpretazioni diverse sulle competenze in sicurezza alimentare. Sarebbe auspicabile la creazione di un'unica autorità capace di regolamentare le competenze attribuendole solo a quelle figure professionali che hanno specificità nella sicurezza alimentare, evitando le sovrapposizioni d'ispezioni, contrasti e conflitti che causano solo una sfiducia nel cittadino, sia esercente sia consumatore, verso lo Stato.

## P019

### Studio di applicabilità e messa a punto di metodi in reazione a catena della polimerasi digitale per l'analisi quantitativa diretta di eventi geneticamente modificati

Maria Giovanna Tilocca,\* Silvia Dei Giudici, Edoardo Marongiu, Bruna Vodret

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Struttura Complessa Igiene degli Alimenti, Sassari, Italy

\*mgtilocca@gmail.com

La reazione a catena della polimerasi digitale (dPCR) è un approccio molecolare di ultima generazione capace di misure precise e accurate, le cui *performances* in termini di applicabilità e sensibilità, evidenziano la massima efficienza di quantificazione del DNA target, senza la necessità di avere una curva di calibrazione e materiali di riferimento, riducendo i tempi e i costi di analisi. I laboratori ufficiali deputati ai controlli di organismi geneticamente modificati (OGM) in alimenti e mangimi, applicano routinariamente un'iniziale PCR di *screening*, seguita da una PCR evento-specifica di identificazione e

quantificazione. L'identificazione e la quantificazione di ciascun evento sono direttamente dipendenti da un metodo specifico e dal materiale di riferimento. Il costante incremento di eventi GM sviluppati e commercializzati ha gradualmente forzato sempre di più i laboratori a razionalizzare il loro lavoro analitico. Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare l'applicabilità della dPCR alla quantificazione diretta di OGM e la possibilità di trasferire in dPCR le attuali metodiche validate in PCR in tempo reale (RT-PCR) per l'analisi di eventi GM in alimenti e mangimi. Il sistema dPCR utilizzato in questo lavoro è il QX200 *droplet digital* PCR (ddPCR) (Biorad, Hercules, CA, Stati Uniti) basato sulla ripartizione del campione in migliaia di goccioline in un'emulsione olio-acqua, la successiva amplificazione dell'emulsione contenente il DNA target, infine l'analisi delle *droplet* contenenti il DNA target (*positive*) e non (*negative*) mediante la statistica di Poisson. Lo studio preliminare è stato condotto su materiali di riferimento certificati e campioni provenienti dai circuiti interlaboratoriali contenenti differenti percentuali di soia e mais geneticamente modificati. I campioni sono stati testati con i relativi protocolli di RT-PCR per ciascun sistema (endogeno/transgene mais e soia) e in dPCR su un numero di replicati statisticamente significativo per ciascun livello di concentrazione (6 replicati per campione in RT-PCR, 7 in dPCR). Le prestazioni dei protocolli in dPCR sono state definite mediante prove di ottimizzazione delle concentrazioni di *primers* e sonde e la determinazione della temperatura di *annealing* in gradiente. Infine, per ciascun sistema endogeno e transgene analizzato sono state valutate la sensibilità, la specificità, l'accuratezza e la ripetibilità dei protocolli in dPCR. L'analisi dei dati ottenuti ha mostrato una buona specificità e sensibilità della dPCR; per ciascun sistema analizzato i dati di quantificazione assoluta sono risultati accurati (*bias*  $\leq 25\%$ ) e ripetibili (deviazione standard relativa  $\leq 25\%$ ) in accordo con i requisiti minimi di *performance* definiti per i metodi di analisi ufficiali di OGM. Queste prove preliminari risultano incoraggianti per un'applicabilità nelle analisi di routine di alimenti e mangimi OGM con risultati di quantificazione diretta, precisa e accurata. La quantificazione in dPCR non richiede la costruzione di curve di calibrazione, offre una migliore tolleranza a fattori d'inibizione legati a matrici complesse che possono influenzare l'efficienza della reazione di PCR, con una riduzione dei costi e dei tempi rispetto all'attuale strategia analitica degli OGM.

## P020

### Piano integrativo di controllo per la ricerca di *Listeria monocytogenes* nelle imprese alimentari: l'attività del Servizio Igiene degli Alimenti di Origine Animale dell'Area Vasta 4 di Fermo

Loredana Di Giacomo,<sup>1\*</sup> Antonio Angellotti,<sup>1</sup> Aldo Annibaldi,<sup>1</sup> Giuliana Blasi,<sup>2</sup> Gabriela Ciccaleni,<sup>1</sup> Giuseppe Cupelli,<sup>1</sup> Anna Rita Loschi,<sup>3</sup> Nazzareno Marcantoni,<sup>1</sup> Angeliki Riganatou,<sup>1</sup> Simonetta Ruggeri,<sup>1</sup> Ezio Ferretti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Azienda Sanitaria Unica Regionale Marche, Servizio Igiene degli Alimenti di Origine Animale, Area Vasta 4 di Fermo, Fermo; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia; <sup>3</sup>Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Polo di Medicina Veterinaria, Università di Camerino, Camerino (MC), Italy

\*loridg01@libero.it

A seguito dell'aumento del numero di casi di listeriosi umana rispetto all'atteso, la Regione Marche ha emanato con nota protocollo n° 2386 del 3 Marzo 2016 un piano integrativo di controllo delle imprese alimentari che producono prodotti a base di carne *ready-to-*

*eat* (RTE) per la ricerca del patogeno. Per l'Area Vasta n° 4 di Fermo il piano ha previsto il monitoraggio in 12 strutture, 7 imprese riconosciute e 5 attività registrate: in ogni struttura sono stati effettuati 10 tamponi ambientali su superfici a contatto con gli alimenti (SC), 5 su quelle non a contatto (SNC) ed eventuali campioni di matrici alimentari. La scelta delle imprese riconosciute è stata effettuata sulla base dei seguenti criteri: volumi produttivi, dati storici rilevati sia in autocontrollo che durante i controlli ufficiali (CU), filiere potenzialmente più esposte al rischio di contaminazione (es. lavorazioni crociate crudo/cotto). Per le attività registrate è stata data la priorità alla grande distribuzione organizzata (GDO). La modalità di campionamento, da effettuare durante le attività di lavorazione, ha previsto il rispetto delle buone prassi di prelievo, l'utilizzo di spugnette preumidificate con soluzione neutralizzante e la verifica di una superficie di almeno 1000-3000 cm<sup>2</sup>. Su 180 tamponi effettuati sono state riscontrate 21 positività (presenza di *Listeria monocytogenes* su superficie tamponata): 10 negli stabilimenti riconosciuti (coinvolti 4 stabilimenti, 6 positività in SNC e 4 in SC) ed 11 nella GDO (coinvolti 4 punti vendita, 6 positività in SNC e 5 in SC). A seguito delle non conformità evidenziate in tutte le imprese coinvolte da positività, l'autorità competente (AC) ha prescritto all'operatore del settore alimentare (OSA) una pulizia/sanificazione straordinaria con verifica in autocontrollo della sua efficacia mediante l'utilizzo della stessa metodica di campionamento utilizzata dal CU, l'aggiornamento della formazione del personale e l'aggiornamento/adequamento delle procedure in autocontrollo (in modo particolare per la pulizia/sanificazione e il piano di campionamento). Inoltre, nelle attività in cui la positività ha riguardato le SC sono stati effettuati ulteriori 19 tamponi di verifica (9 SC e 10 SNC) con il riscontro di 4 positività in 3 imprese alimentari (1 SC e 3 SNC); inoltre, in 3 strutture riconosciute si è provveduto anche all'esecuzione della ricerca del patogeno su lotti di prodotto finito risultati tutti negativi. Le ulteriori positività hanno comportato prescrizioni nel caso di SNC e prelievo di prodotto finito in caso di SC. L'attività di CU svolta nell'ambito del piano ha permesso di evidenziare come l'OSA non abbia ancora ben chiaro il suo ruolo nella sicurezza alimentare [*Hazard-Analysis and Critical Control Points* (HACCP) come mero obbligo di legge] e come non sia ancora stata effettuata una corretta valutazione dei rischi collegati al pericolo *L. monocytogenes*. La formazione di tutto il personale coinvolto (maestranze, responsabili HACCP, consulenti, AC) rimane un punto fondamentale al fine di ridurre ad un livello accettabile la probabilità di immettere sul commercio alimenti non sicuri. Il servizio veterinario competente ha in programma l'organizzazione di un incontro formativo con gli OSA e consulenti coinvolti al fine di affrontare al meglio la problematica e di rafforzare le attività di monitoraggio sul territorio estendendo i controlli anche su altri RTE (prodotti a base di latte e di pesce).

## P021

### Studio del potenziale invasivo di ceppi di *Listeria monocytogenes* isolati da alimenti pronti al consumo reperibili in commercio

Vincenzo Spanu,<sup>1</sup> Carlo Spanu,<sup>1</sup> Francesca Cossu,<sup>1</sup> Daniele Casti,<sup>1</sup> Carlo Pala,<sup>1</sup> Erica Mura,<sup>2</sup> Silvia Deidda,<sup>2</sup> Sonia Lamon,<sup>1</sup> Michela Ibba,<sup>1</sup> Christian Scarano,<sup>1\*</sup> Andrea Piana,<sup>2</sup> Enrico Pietro Luigi De Santis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari, Sassari; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Igiene e Medicina Preventiva, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italy

\*scarano@uniss.it

*Listeria monocytogenes* è un microrganismo patogeno agente causale della listeriosi, malattia caratterizzata da un elevato tasso di mortalità, soprattutto in categorie sensibili di consumatori, quali immunodepressi, anziani, neonati e donne in gravidanza (*young, old, pregnant and immunosuppressed*, YOPI). Tra i fattori di patogenicità, uno dei principali, è rappresentato dal gruppo delle interne-line, proteine di membrana coinvolte nel processo di invasione delle cellule epiteliali dell'ospite. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare il potenziale invasivo di ceppi di *L. monocytogenes* isolati da alimenti *ready-to-eat* (RTE) disponibili in commercio. Lo studio ha previsto la ricerca e la tipizzazione molecolare, mediante *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP), del gene codificante l'internalina A (*inIA*), per la valutazione della presenza di codoni di stop (PMSC). Nel corso del 2014 e del 2015 sono stati acquisiti in 7 differenti campionamenti presso punti di vendita al dettaglio n.85 RTE. I campioni RTE includevano: sandwich confezionati in atmosfera modificata, formaggi, salumi affettati, insalate di mare, salmone affumicato e insalate di IV gamma; tutti i prodotti erano preconfezionati. La ricerca quali-quantitativa di *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* è stata effettuata secondo la norma ISO 11290-1/2:1996, Amd:2004. Da ciascun campione risultato positivo su piastre di agar sono state prelevate 5 colonie tipiche e la conferma di genere, specie e siero-varianti è stata effettuata mediante multiplex PCR secondo il protocollo proposto da Doumith *et al.* (2004). Su 17 ceppi di *L. monocytogenes* si è proceduto alla ricerca del gene *inIA*, utilizzando i *primers* seq01 e seq02. I prodotti di PCR ottenuti sono stati digeriti con gli enzimi di restrizione Alul e Tsp509I (New England Biolabs, Ipswich, MA, Stati Uniti) rispettivamente alla temperatura di 37 e 65°C per 4 ore. I profili di restrizione sono stati visualizzati ed analizzati utilizzando il software Quantity One (BioRad, Hercules, CA, Stati Uniti) al fine di ottenere dei profili compositi, classificati dalla A alla E, secondo quanto proposto da Rousseaux *et al.* (2004). I profili compositi B, C ed E sono rappresentativi del gene *inIA* completo, mentre i profili A e D del gene *inIA* tronco, per presenza di PMSC. Il 7,65% dei campioni (8 sandwich e 1 salmone affumicato) sono risultati contaminati da *Listeria* spp., mentre in 3 campioni (2 sandwich e 1 gorgonzola e mascarpone) è stata rilevata la presenza di *L. monocytogenes*. I ceppi di *L. monocytogenes* isolati dal campione di gorgonzola e mascarpone appartenevano alla siero-variante 1/2b, mentre quelli isolati dai sandwich appartenevano alla siero-variante 4b. L'analisi visiva dei profili di restrizione ha mostrato che tutti gli isolati erano ascrivibili al profilo 1 per l'enzima Alul e al profilo 2 per l'enzima Tsp509I. Dalla combinazione dei profili 1 e 2 è stato ottenuto il profilo composito di tipo B, ascrivibile al gene *inIA* completo, senza PMSC nella sequenza nucleotidica. La presenza nei RTE analizzati di *L. monocytogenes* con un potenziale di invasività inalterato suggerisce che debba essere posto un maggiore livello di attenzione e soprattutto di informazione, quando questi particolari RTE sono destinati a consumatori appartenenti alle suddette categorie a rischio (YOPI).

## P022

### Pizze *gluten-free*: indagine in pizzerie da asporto nella provincia di Torino

Clara Ippolito, Sandra Fragassi, Andrea Palma, Maria Caramelli, Daniela Manila Bianchi, Lucia Decastelli\*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Centro Regionale per le Allergie e Intolleranze Alimentari, Torino, Italy  
\*lucia.decastelli@izsto.it

La celiachia è una malattia infiammatoria cronica dell'intestino tenue. Si manifesta in soggetti geneticamente predisposti, a seguito dell'ingestione del glutine, frazione proteica di cereali quali frumento, segale, orzo, avena. I sintomi classici sono diarrea, crampi addominali, meteorismo e perdita di peso; una sintomatologia subclinica può essere caratterizzata da sintomi più lievi; infine, la formazione di auto-anticorpi può portare all'interessamento di molti organi e apparati. L'unica terapia per contrastare la sintomatologia è la dieta priva di glutine. Il regolamento (CE) n. 41/2009 disciplina la composizione e l'etichettatura dei prodotti alimentari adatti alle persone intolleranti al glutine. Il regolamento sancisce che è ammessa la dicitura in etichetta *senza glutine* se il contenuto di glutine non supera 20 mg/kg (ppm) nei prodotti alimentari quali venduti al consumatore finale. Inoltre, è ammessa la menzione *con contenuto di glutine molto basso* per quei prodotti costituiti da ingredienti ricavati da frumento, segale, orzo o avena, lavorati per ridurre il contenuto: in questi casi il tenore in glutine non deve superare 100 mg/kg (ppm). La prevalenza europea di soggetti celiaci è stimata tra lo 0,3 e l'1,2%, con un incremento annuo di circa il 10%. In questo lavoro è riportato uno studio volto a valutare il livello di sicurezza per consumatori celiaci di pizze da asporto acquistate presso pizzerie della provincia di Torino e affiliate alla più importante Associazione Nazionale di Pazienti Celiaci. Dal sito dell'Associazione, risultano censiti 12 locali in Torino e 20 in provincia. Nelle serate di sabato o domenica, in un orario compreso tra le 20 e le 21.30, si è effettuato un campionamento di una pizza margherita senza glutine. Le pizze sono state conservate nel loro contenitore di cartone chiuso, fino al successivo lunedì quando sono state consegnate presso il Centro Regionale per le Allergie e Intolleranze Alimentari (CREALIA) dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Torino. I campioni sono stati analizzati con il kit commerciale Ridascreen Gliadin (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germania). Il kit dichiara un limite di rilevanza (LOD) e di quantificazione pari a 1,5 e 2,5 ppm di gliadina, rispettivamente. In totale sono state prelevate 28 pizze, campionate in 28 diversi esercizi. In una pizzeria non è stato possibile effettuare il campionamento per esaurimento dell'impasto *gluten-free* e nelle altre tre, per mancato servizio di asporto durante il fine settimana. In totale sono stati analizzati 56 campioni: ciascuna pizza infatti è stata analizzata sia come tal quale (base pizza+farcitura margherita, n=28), sia come base privata della farcitura (n=28). I 28 campioni di pizza tal quale hanno dato esito negativo, risultando inferiori al LOD del metodo. Per quanto riguarda i campioni di base pizza senza farcitura, 27 su 28 (96,4%) sono risultati inferiori al LOD, mentre un campione (1/28=3,6%) ha fatto riscontrare un valore di gliadina pari a 5 ppm (10 ppm di glutine). Sebbene tutti i locali inclusi nello studio producano parallelamente prodotti tradizionali contenenti glutine, i risultati rivelano che le procedure messe in atto dai gestori dei locali per evitare le cross-contaminazioni tra prodotti contenenti glutine e quelli *gluten-free* sono efficaci. In un solo campione è stata individuata la presenza di tracce di glutine, ma in valori al di sotto del limite massimo tollerato dalla normativa oggi in vigore (20 ppm).

## P023

### Ristorazione etnica e sicurezza alimentare: recepimento ed applicazione delle norme vigenti

Francesco Chiesa,<sup>1</sup> Daniele M. Nucera,<sup>2</sup> Marco Ortoffi,<sup>1</sup> Patrizia Morra,<sup>1</sup> Stefano Storerò,<sup>3</sup> Maria Ausilia Grassi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Torino;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali ed Alimentari, Università degli Studi di Torino, Torino;

<sup>3</sup>Tecnico della prevenzione, Libero professionista, Torino, Italy

\*auxilia.grassi@unito.it

In Italia la maggioranza delle attività di ristorazione etnica effettua preparazioni afferenti alla cucina orientale (principalmente cinese e giapponese) o a quella medio-orientale (principalmente kebab e prodotti affini). Queste tipologie di cucina possiedono una storia ed evoluzione differente da quella italiana, con l'utilizzo di ingredienti e procedimenti che possono essere anche molto differenti da quelli su cui vengono comunemente applicate le procedure igieniche. Queste differenze, per quanto non siano un fattore cruciale, rivestono un ruolo importante nell'assicurare la salubrità dei prodotti alimentari consumati: queste preparazioni possono pertanto richiedere attenzioni specifiche o, quantomeno, una conoscenza di base dei metodi di cucina utilizzati. Per tali motivazioni si ipotizza che le attività di ristorazione etnica presentino un maggior rischio di tossinfezioni alimentari rispetto alla media. La ricerca si propone di indagare il recepimento e l'applicazione della normativa sull'igiene degli alimenti da parte degli operatori del settore alimentare (OSA) attivi nel settore della cucina etnica, e le difficoltà di implementazione di tale normativa, sia di origine pratica che socio-culturale. Per quantificare l'eccesso di rischio per le attività di ristorazione etnica rispetto alle altre attività presenti nel territorio dell'Azienda Sanitaria Locale TO3, sono stati raccolti ed elaborati i dati presenti nell'archivio ARVET, identificando inoltre le non conformità più frequenti e quali di queste sono caratteristiche del tipo di attività oggetto di studio. È stata poi eseguita una ricerca sul campo, esaminando 143 attività di ristorazione etnica, di cui 72 kebab e 71 attività di ristorazione orientale. I dati sono stati raccolti tramite una *checklist* ed un questionario anonimo, la prima formulata sulla base delle non conformità più ricorrenti. È stata inoltre utilizzata una seconda *checklist* specifica sulle corrette procedure di preparazione del kebab. La *checklist* è stata validata con metodo *split half*, ottenendo un indice di validazione di 0,58. Le attività di ristorazione etnica rientrano per la maggior parte nelle classi di rischio medio (medio-orientale 33%, orientale 24%) ed elevato (medio-orientale 43%, orientale 51%), al contrario della maggior parte delle altre attività, che rientrano nella classe di rischio basso (60%). L'analisi delle sanzioni erogate (2013-2015) riporta valori medi di 0,043 per la ristorazione medio-orientale (i kebab) e 0,09 per la ristorazione orientale, contro uno 0,016 per le altre attività. Le non conformità rilevate sono imputabili soprattutto a carenze formative dell'OSA e all'inadeguatezza di strutture ed attrezzature (correlabili a carenze di risorse economiche). Lo studio dimostra come le carenze di formazione ed informazione, unite a fattori di tipo socio-economico, siano determinanti per il rispetto delle buone prassi igieniche nelle attività di ristorazione etnica. Emerge quindi l'importanza della componente di mediazione culturale nel campo della prevenzione e dell'igiene alimentare, importanza destinata ad aumentare, data la probabile sempre maggior natura cosmopolita della popolazione e della società dei prossimi decenni. È inoltre auspicabile, da parte degli specialisti del settore, l'elaborazione di procedure di riferimento che permettano un livello di igiene adeguato richiedendo il minor dispendio economico possibile.

## P024

### Standard per la valutazione delle *performances* dei terreni utilizzati nella microbiologia alimentare: riflessioni

Selene Marozzi,\* Stefano Saccares, Teresa Bossù, Stefano Bilei

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri, Roma, Italy

\*selene.marozzi@izslt.it

Scopo del lavoro è esaminare alcuni principi fondanti della UNI EN ISO 11133:2014 *Microbiologia degli alimenti, mangimi per animali e acqua. Preparazione, produzione, immagazzinamento e prove di prestazione dei terreni colturali*. L'analisi è finalizzata a porre in evidenza taluni aspetti critici e a promuovere soluzioni sostenibili in ambito tecnico ed economico gestionale. Poiché qualsiasi analisi può avere una valenza assoluta ed una valenza relativa, che deve essere contestualizzata considerando le caratteristiche dell'esaminatore, si ritiene utile precisare che l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri (IZSLT), Ente di recepimento della ISO, produce annualmente circa 25.000 lotti di terreno costituiti da un numero medio di unità pari a 270 piastre e 550 provette da 9 mL. È stata predisposta una tabella riassuntiva contenente i punti della UNI EN ISO 11133:2014 in cui è richiesta autonomia decisionale da parte del Laboratorio ed i paragrafi con gli elementi problematici in un'ottica gestionale ed economica. Per ciascuno di questi elementi sono stati indicati gli interventi adottati e le relative scelte opzionali. Sono state identificate 4 sezioni principali nelle quali è richiesta una maggiore autonomia decisionale al Laboratorio. Una discrezionalità tecnico-scientifica sulle modalità di applicazione di un *elemento obbligatorio* o sull'applicazione di un *principio o elemento facoltativo* viene proposta nei punti: 5.4.2.3 Preparazione della sospensione per il test, 6.3.2 Terreni di riferimento, 6.4 Generalità sui requisiti per i test di valutazione delle prestazioni, 6.4.2 Terreni pronti all'uso, 7.2.2.1.1 Procedura per i metodi quantitativi per terreni solidi. Relativamente ai punti discrezionali, il Laboratorio ha dovuto, pertanto, effettuare alcune scelte e determinare gli interventi ad esse consequenziali. L'analisi delle criticità economico-gestionali ha evidenziato problematicità nei seguenti punti: 6.1 Generalità sul controllo di qualità e test sulle prestazioni di un terreno di coltura, 6.3.1 Generalità sul controllo di qualità microbiologica, 6.3.2 Terreni di riferimento, 7.2.2.1.1 Procedura per i metodi quantitativi per terreni solidi. In breve, gli elementi di maggiore difficoltà applicativa sono emersi relativamente all'ambito economico-gestionale. La realtà produttiva di recepimento della ISO infatti, è una realtà votata alle piccole produzioni. I principi fondanti della ISO stabiliscono che *devono essere testate le prestazioni di ogni lotto di terreno [...] su campioni rappresentativi* e che questa valutazione *deve essere applicata a prescindere dalle dimensioni del lotto*. A questo è necessario aggiungere che sono richieste ulteriori verifiche presso i laboratori utilizzatori delle sezioni territoriali dell'IZSLT. Considerando i costi presunti correlati ai volumi prodotti, si ritiene necessario effettuare una valutazione sulla possibilità di integrare la UNI EN ISO 11133:2014 con la UNI ISO 2859-3:2007 *Procedimenti di campionamento nell'ispezione per attributi. Parte 3: Procedimenti di campionamento con il salto di lotto*. Quest'ultima ISO prevede infatti la possibilità di eseguire una verifica con il criterio del *salto di lotto*, quando i risultati del campionamento per un determinato numero di lotti hanno soddisfatto i criteri dichiarati.

## P025

### Messa a punto di un protocollo per la valutazione della capacità di formare biofilm da *Listeria monocytogenes* in polimeri destinati all'industria alimentare trattati con mezzi fisici

Patrizia Centorame,<sup>1</sup> Anna Rita D'Angelo,<sup>1</sup> Federica Di Simone,<sup>1</sup> Romolo Salini,<sup>1</sup> Alessandra Cornacchia,<sup>1</sup> Raffaele Marrone,<sup>2\*</sup> Aniello Anastasio,<sup>2</sup> Francesco Pomilio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G. Caporale, Teramo; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italy  
\*raffaele.marrone@gmail.com

*Listeria monocytogenes* è un microrganismo patogeno di origine alimentare, ampiamente distribuito nell'ambiente e comunemente associato all'industria alimentare. *L. monocytogenes* può persistere in ambienti di lavorazione di alimenti per lunghi periodi in relazione alla sua capacità di resistere ad ampie oscillazioni di temperature e pH ed alla capacità di formare biofilm. È responsabile di listeriosi ed i veicoli di trasmissione più comunemente implicati sono alimenti pronti per il consumo. Scopo dello studio è stato sviluppare un protocollo che permettesse di valutare la capacità di polimeri destinati all'imballaggio, trattati con mezzi fisici, di limitare la produzione di biofilm da parte di *L. monocytogenes*. Per lo studio sono stati selezionati due ceppi di *L. monocytogenes*: ATCC 7644 ed EURL 12MOB098LM isolato da prodotti lattiero caseari. I ceppi sono stati portati alla fase di crescita logaritmica, standardizzati e titolati fino a raggiungere una concentrazione di circa 108 unità formanti colonie mL<sup>-1</sup>. Le prove di formazione di biofilm sono state condotte su due diversi materiali da confezionamento identificati come HGP40 e GND35 precedentemente sottoposti a trattamenti fisici. I polimeri appositamente ritagliati sono stati posti in piastre per la coltura dei tessuti e saggiati per la capacità di produrre biofilm modificando il protocollo sulla formazione di biofilm in supporti di acciaio descritto da Di Bonaventura *et al.* (2008). Tutti i materiali da confezionamento sono stati inoltre analizzati con microscopio elettronico a scansione (SEM; Carl Zeiss, Oberkochen, Germania). Il protocollo sviluppato si è rivelato efficace ai fini della valutazione della capacità di formare biofilm su substrati polimerici. Sulla base delle osservazioni al SEM il mancato sviluppo è denotato dal fatto che i ceppi saggiati non presentano una struttura ed un'architettura complessa in termini di numero di cellule; inoltre non sono rilevabili densi aggregati di cellule tenute insieme da sostanza polimerica extracellulare. Dall'analisi statistica ( $P < 0,05$ ) dei risultati si evince che il biofilm è stato prodotto in maniera quantitativamente diversa su entrambi i polimeri saggiati a  $12 \pm 1$  °C. Nel polimero GND35 non si è evidenziata differenza statisticamente significativa tra il polimero trattato e quello non trattato (ANOVA  $P < 0,10$ ). Nel polimero HGP40 non trattato, invece, la capacità di formare biofilm è stata significativamente maggiore rispetto a quello trattato. La possibilità di disporre di materiali destinati all'imballaggio alimentare che, in relazione a trattamenti fisici, ostacolano la formazione di biofilm è un elemento molto importante per l'industria alimentare, considerando la capacità dei patogeni alimentari come *L. monocytogenes* di sopravvivere e crescere a basse temperature, a diverse concentrazioni di sale e a bassi valori di pH. È importante sottolineare che questa sperimentazione è stata effettuata alla temperatura consigliata dalle Linee Guida ANSES per questa tipologia di prove, in quanto riproduce la temperatura che normalmente si riscontra nell'industria di lavorazione di alimenti. Fatto salvo il rispetto delle buone prassi igieniche e dei principi dell'*Hazard-Analysis and Critical Control Points*, l'uso di tali polimeri potrebbe notevolmente ridurre il rischio di produzione di biofilm e quindi di sviluppo di *L. monocytogenes*. In ogni caso, ulteriori prove sono necessarie per la validazione del protocollo e dell'efficacia dei trattamenti.

## P026

### Educare il consumatore attraverso i bambini: il laboratorio didattico quale strumento di formazione in sicurezza alimentare e in campo nutrizionale

Amaranta Traversa,<sup>1</sup> Daniela Adriano,<sup>1</sup> Alberto Bellio,<sup>1</sup>

Daniela Manila Bianchi,<sup>1</sup> Silvia Gallina,<sup>1</sup> Clara Ippolito,<sup>1</sup> Angelo Romano,<sup>1</sup> Paola Durelli,<sup>2</sup> Andrea Pezzana,<sup>2</sup> Lucia Decastelli<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Struttura Complessa di Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Torino; <sup>2</sup>Ospedale San Giovanni Bosco, Struttura Operativa Semplice Dipartimentale di Dietetica e Nutrizione Clinica, Torino, Italy  
\*Lucia.decastelli@izsto.it

La salute del consumatore costituisce l'obiettivo comune delle strategie di prevenzione che ogni giorno vengono applicate a livello comunitario. Se da un lato le allergie alimentari, il diabete e l'obesità sono in crescita, gli ultimi dati della *European Food Safety Authority* evidenziano come la maggior parte dei casi confermati di malattia trasmessa da alimenti (MTA) abbia origine da errori nella manipolazione domestica degli alimenti. Educare il consumatore su quali siano i comportamenti corretti per prevenire le patologie legate al consumo di alimenti risulta quindi fondamentale. In tale contesto vengono in aiuto i bambini: essi rappresentano un prezioso veicolo d'informazione per le famiglie e il coinvolgimento in esperienze educative pratiche aumenta la loro consapevolezza verso comportamenti protettivi da applicare. L'obiettivo è stato ideare e proporre ai bambini della scuola primaria cinque laboratori didattici dedicati alla microbiologia degli alimenti, alle allergie alimentari e alla nutrizione, in occasione di attività organizzate a Torino per EXPO 2015. I bambini sono stati coinvolti in attività di ascolto, nella visione di video e di esperimenti di laboratorio, attraverso attività ludiche, esperienze sensoriali e giochi di manipolazione. In dettaglio sono stati allestiti numerosi esperimenti dedicati alla scoperta dell'attività dei microrganismi utili e dannosi negli alimenti. Nei panni di piccoli investigatori scientifici hanno partecipato alle indagini di un episodio di MTA affrontando alcuni giochi utili alla raccolta di indizi per identificarne i microrganismi responsabili. Durante le attività è stata proposta una favola per introdurre la tematica degli allergeni alimentari e farli avvicinare alle problematiche che una loro ipotetica coetanea allergica può vivere ogni giorno. Infine, utilizzando i propri sensi, hanno provato a riconoscere gli alimenti che possono comporre la prima colazione (cereali, zuccheri, frutta, latte e bevande a base di latte), la verdura e la frutta di stagione. Nel periodo maggio-luglio 2015 sono stati coinvolti 970 bambini tra 6 e 11 anni, il 61% appartenente a scuole primarie e il 39% a centri estivi della città di Torino. La proiezione di animazioni video è risultata utile per trasmettere l'importanza della prima colazione e introdurre loro, anche se traslata sul mondo animale, le problematiche correlate all'obesità. Grande attenzione ha suscitato la scoperta dei microrganismi che possono essere presenti normalmente negli alimenti, le caratteristiche dei batteri, la loro capacità di trasferirsi tra il cibo, il cuoco e le superfici utilizzate in cucina e i trucchi per ridurre queste contaminazioni a casa. Attraverso un gioco di manipolazione che mimava la preparazione di biscotti con una pasta da modellare, è stato possibile introdurre ai bambini la problematica delle contaminazioni crociate da parte degli allergeni alimentari. L'esperienza sensoriale, infine, ha permesso di focalizzare l'attenzione dei bambini sull'importanza di una dieta varia e con prodotti di stagione. I bambini hanno mostrato interesse e curiosità nei confronti delle tematiche e delle attività proposte. Il coinvolgimento di bambini della scuola primaria in esperienze educative pratiche dedicate alla sicurezza alimentare e alla nutrizione rappresenta un'occasione importante per renderli più consapevoli dei corretti comportamenti di prevenzione e per aiutarli nella costituzione di un pensiero critico nei confronti dei consumi.

#### **EDITORIAL STAFF**

Lucia Zoppi, Journal Manager  
[lucia.zoppi@pagepress.org](mailto:lucia.zoppi@pagepress.org)

Claudia Castellano, Production Editor  
Cristiana Poggi, Production Editor

Tiziano Taccini, Technical Support

#### **PUBLISHED BY**

PAGEPress Publications  
via A. Cavagna Sangiuliani, 5  
27100 Pavia, Italy  
T. +39.0382.464340  
F. +39.0382.34872



[www.pagepress.org](http://www.pagepress.org)  
[info@pagepress.org](mailto:info@pagepress.org)

#### **TIPOGRAFIA**

Press Up srl  
via La Spezia 118/C  
00055 Ladispoli (RM), Italy

Stampato: settembre 2016.



Associazione Italiana Veterinari Igienisti

## Con il patrocinio di



## Si ringrazia per la collaborazione

