



XXVIII CONVEGNO NAZIONALE AIVI

**ATTUALITÀ NELL'IGIENE DEGLI
ALIMENTI: STATO DELL'ARTE E
PROSPETTIVE FUTURE**



In collaborazione con:



MILANO, 12-14 SETTEMBRE 2018

**Sala Marco Biagi - Palazzo Lombardia
Via Melchiorre Gioia, 37
Ingresso Nucleo 4**

IN COLLABORAZIONE CON



ORDINE DEI TECNOLOGI ALIMENTARI
Regione Lombardia e Liguria

CON IL PATROCINIO DI



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA



Comune di
Milano



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



Ordine dei Medici Veterinari
della provincia di Milano



ASSICA
Associazione Industriali
delle Carni e dei Salumi

Assolatte
ASSOCIAZIONE ITALIANA
LATTIERO CASEARIA



Si ringrazia l'Architetto Francesca Cornali per l'ideazione del logo del Convegno.



ATTUALITÀ NELL'IGIENE DEGLI ALIMENTI: STATO DELL'ARTE E PROSPETTIVE FUTURE

PRESIDENTE

Enrico Pietro Luigi De Santis (Università degli Studi di Sassari)

VICEPRESIDENTE

Roberto Macrì (Servizio Veterinario Regione Calabria)

SEGRETARIO

Christian Scarano (Università degli Studi di Sassari)

COMITATO SCIENTIFICO

Aniello Anastasio (Università di Napoli Federico II)

Gaetano Celano (Università di Bari)

Beniamino Cenci Goga (Università di Perugia)

Alessandro Giuffrida (Università di Messina)

Alessandra Guidi (Università di Pisa)

Adriana Ianieri (Università di Parma)

Anna Rita Loschi (Università di Camerino)

Enrico Novelli (Università di Padova)

Andrea Serraino (Università di Bologna)

Giuseppina Marilia Tantillo (Università di Bari)

(ASL)

Gaetano Liuzzo (USL Modena)

Roberto Macrì (Servizio Veterinario Regione Calabria)

Domenico Mollica (Servizio Veterinario A.S.L. Sorrento)

(Istituto Zooprofilattico Sperimentale)

Teresa Bossù (Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana)

Virgilio Sebastiano (IZS Sardegna)

(Industria)

Palma Giuseppe (ASSOITTICA)

REVISORI DEI CONTI

Loredana Di Giacomo (ASUR Marche)

Emanuele Guidi (ASL di Modena)

Simone Stella (Università degli Studi di Milano)

COLLEGIO DEI PROBIVIRI

Stefano Bilei (Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana)

David Ranucci (Università di Perugia)

Graziella Ziino (Università di Messina)

COMITATO ORGANIZZATORE

Referente

Patrizia Cattaneo (Università degli Studi di Milano)

Cristian Bernardi (Università degli Studi di Milano)

Simone Stella (Università degli Studi di Milano)

Lisa Vallone (Università degli Studi di Milano)

Erica Tirloni (Università degli Studi di Milano)

Claudia Balzaretto (Università degli Studi di Milano)

Giovanni Savoini (Università degli Studi di Milano)

Ettore Paladino (ATS di Bergamo)

Filippo Castoldi (ATS di Pavia-Direzione Generale Welfare, Regione Lombardia)

Piero Frazzi (Direzione Generale Welfare, Regione Lombardia)

Si ringraziano i Professori

*Patrizia Cattaneo, Andrea Serraino e Alessandra Guidi
per la revisione degli abstracts.*

Comunicazioni Scientifiche

■ MERCOLEDÌ 12 SETTEMBRE 2018

Prodotti della pesca

Indagine preliminare sulla componente batterica di gasteropodi marini eduli dell'Adriatico	1
Patrizia Serratore, Emanuele Zavatta, Giorgia Bignami, Luna Lorito	
Caso-studio di sviluppo della procedura di campionamento per la ricerca dei tenori rappresentativi del mercurio in una partita di tonni di mattanza	1
Pierluigi Piras, Antonio Assaretti, Gianuario Fiori, Andrea Sanna, Giannina Chessa	
Valutazione dei metodi di campionamento ufficiali definiti dall'Unione Europea nei confronti del mercurio nei prodotti della pesca utilizzando un modello probabilistico	2
Cesare Ciccarelli, Melina Leinoudi, Angela Marisa Semeraro, Vittoria Di Trani, Giuseppe Angelozzi, Elena Ciccarelli, Ivan Corti	
Presenza di parabeni in differenti tipologie di pesci ed implicazioni ai fini della sicurezza alimentare	2
Maria Nobile, Sara Panseri, Francesco Arioli, Elisa Pasquale, Claudia Balzaretti, Marta Castrica, Luca Maria Chiesa	

Non solo carne, pesce e latte

Studio sulle comunità microbiche di spugne da cucina: evidenza di <i>Cronobacter sakazakii</i> e di batteri ESBL	3
Stefania Maria Marotta, Filippo Giarratana, Anastasia Calvagna, Graziella Ziino, Alessandro Giuffrida, Antonio Panebianco	
Conformità agli obblighi informativi precontrattuali nella vendita a distanza (B2C) di prodotti alimentari preimballati. La spesa on line nella GDO italiana	3
Gaetano Liuzzo, Silvia Rolandi, Federica Giacometti, Silvia Piva, Andrea Serraino	
L'evoluzione dei controlli nella ristorazione della penisola sorrentina	4
Domenico Mollica, Francesco Cacace, Rosanna Bruno, Francesco Saverio Castellano, Vincenzo Rapesta, Andrea Mancusi, Angela Giordano, Yolande T.R. Proroga	
Valutare l'efficacia di interventi informativi in materia di sicurezza alimentare a volontari delle strutture caritative	4
Daniela Manila Bianchi, Ilaria Giorgi, Fabio Zuccon, Chiara Scordia, Donatella De Somma, Valeria D'Errico, Adolfo Muzzani, Vilma Soncin, Salvatore Collarino, Lucia Decastelli	
Introduzione del metodo nudging per la riduzione dello spreco alimentare in una casa circondariale e penitenziaria - Risultati preliminari	5
Vesna Milicevic, Rosa La Ginestra Marta Castrica, Sabrina Ratti, Claudia Balzaretti, Giampaolo Colavita	
Italian sounding: rischio sanitario o commerciale?	5
Emanuele Guidi, Federica Boggio, Marina Perri	
Analisi preliminare dei dati rilevati durante gli audit di controllo nelle principali aziende italiane della grande distribuzione organizzata	6
Giacomo Rovelli, Lucia Minola, Lisa Vallone	

■ GIOVEDÌ 13 SETTEMBRE 2018

Carni e derivati

Indagine epidemiologica relativa alla prevalenza di <i>Salmonella</i> spp. e <i>Salmonella</i> <i>tiphimurium</i> variante monofasica nella filiera carnea suina in Sardegna mediante screening in PCR-real time	7
Carlo Pala, Tiziana Tedde, Sara Salza, Maria Teresa Uda, Stefano Lollai, Vittoria Carboni, Antonio Fadda, Edoardo Marongiu, Sebastiano Virgilio	
Isolamento di <i>Escherichia coli</i> ESBL da linfonodi meseraici di cinghiale (<i>Sus scrofa</i>)	7
Silvia Bonardi, Simona Longhi, Federico Pia, Margherita Corradi, Stefano Gilioli, Erika Scaltriti	

Prevalenza e tracciabilità di <i>Salmonella</i> spp. in cinque salumifici della Sardegna	7
Francesca Piras, Carlo Spanu, Anna Maria Mocchi, Mariella Demontis, Enrico Pietro Luigi De Santis, Christian Scarano	
Certificazione qualitativa delle carni di selvaggina cacciata mediante analisi nutrizionali e pH-metro	8
Roberto Viganò, Eugenio Demartini, Fiammetta Riccardi, Annafrancesca Corradini, Martina Besozzi, Paolo Lanfranchi, Pietroluigi Chiappini, Andrea Cottini, Anna Gaviglio	
Inattivazione non termica di <i>Listeria</i> spp. in un insaccato fermentato stagionato: "Il salame Bergamasco"	8
Erica Tirloni, Vanessa Di Pietro, Giuseppe Rizzi, Francesco Pomilio, Cristian Bernardi, Simone Stella	
Livelli di nitriti e nitrati in alimenti di origine animale e vegetale e stima dell'assunzione giornaliera nei consumatori del centro Italia	9
Rossana Roila, Raffaella Branciarì, Rita Staccini, David Ranucci, Dino Miraglia, Serena Altissimi, Nacer Haouet	
Sequenziamento parziale del gene Citocromo C Ossidasi subunità 1 (COI) per l'identificazione molecolare di <i>Sarcocystis</i> spp. nel bovino	9
Selene Rubiola, Francesco Chiesa, Stefania Zanet, Tiziana Civera	
Valutazione di due sistemi packaging differenti sul drip loss in carni bovine	10
Simone Stella, Daniela Garavaglia, Giorgia Francini, Valeria Viganò, Cristian Bernardi, Patrizia Cattaneo, Erica Tirloni	
Caratteristiche microbiologiche, reologiche e fisico-chimiche di carne bovina sottoposta a prolungato periodo di frollatura	10
Giorgio Smaldone, Lucia Vollano, Raffaelina Mercogliano, Maria Francesca Peruzu, Francesca Garofalo, Raffaele Marrone	
Presenza di residui di cadmio nel muscolo, fegato e rene di <i>Babalis bubalis</i> ed evidenze istologiche	11
Roberta Barrasso, Edmondo Ceci, Giancarlo Bozzo, Giuseppina Tantillo	
Analisi del microbiota e valutazione del rischio microbiologico in carcasse di polli da carne ottenuti da allevamenti convenzionali ed antibiotic-free	11
Alessandra De Cesare, Antonio Parisi, Alex Lucchi, Loredana Capozzi, Angelica Bianco, Frederique Pasquali, Gerardo Manfreda	
Progetto pilota per un sistema di monitoraggio, registrazione e valutazione degli indicatori di benessere in un macello avicolo	12
Eduardo Fontanella, Maurizio Piumatti, Mariarosaria Sasso, Mauro Noè, Francesco Chiesa, Tiziana Civera	
<i>Thymus vulgaris</i>: valido sostituto di nitrati e nitriti nei prodotti carnei?	12
Serena Salvaneschi, Marcello Iriti, Lisa Vallone	
La gestione dei sottoprodotti di origine animale negli allevamenti del territorio del Parco Nazionale del Gran Sasso e monti della Laga: indagine preliminare	13
Umberto Di Nicola, Folco Scappaticci, Luca Pennisi, Domenico Paludi, Alberto Vergara	

■ VENERDÌ 14 SETTEMBRE 2018

Latte e prodotti lattiero-caseari

<i>Arcobacter</i> spp. nel latte bovino: patogeno emergente a potenziale rischio zoonosico	14
Marta Caruso, Laura Latorre, Gianfranco Santagada, Rosa Fraccalvieri, Laura Maria Difato, Angela Miccolupo, Loredana Capozzi, Elisabetta Bonerba, Anna Mottola, Antonio Parisi	
Whole genome sequencing per la tipizzazione e caratterizzazione di ceppi di <i>Escherichia coli</i> produttori di Shiga-Tossina (STEC) sierotipo O157 e O26 isolati in allevamenti di bovini da latte	14
Frederique Pasquali, Federica Palma, Marcello Trevisani, Alex Lucchi, Alessandra De Cesare, Gerardo Manfreda	
Effetto di propoli prodotta in Toscana sullo sviluppo di <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Bacillus cereus</i> in latte e ricotta	15
Francesca Pedonese, Giada Verani, Beatrice Torracca, Barbara Turchi, Antonio Felicioli, Roberta Nuvoloni	
Identificazione dei fattori di virulenza e antibiotico resistenza in stipiti di <i>Arcobacter butzleri</i> isolati da latte bovino mediante Whole Genome Sequencing	15
Antonio Parisi, Loredana Capozzi, Angelica Bianco, Marta Caruso, Laura Latorre, Antonella Costa, Anna Giannico, Donato Ridolfi, Amelia Bulzacchelli, Gianfranco Santagada	

Studio dei livelli di interferenti endocrini in latte crudo prelevato in azienda: valutazione del rischio	16
Serena Santonicola, Maria Carmela Ferrante, Nicoletta Murru, Genni di Leo, Aniello Anastasio, Raffaelina Mercogliano	
Conservabilità della ricotta salata e affumicata confezionata in atmosfera modificata	16
Christian Scarano, Carlo Spanu, Anna Maria Mocchi, Francesca Piras, Mariella Demontis, Gavino Murittu, Giuliano Pinna, Angela Santoru, Enrico Pietro Luigi De Santis	
Applicazione del metodo Micro Biological Survey (MBS) per la determinazione della carica batterica nel latte crudo bovino	16
Alessandra Cornacchia, Maria Antonietta Saletti, Violeta Di Marzio, Romolo Salini, Cristina Marfoglia, Elga Tieri, Nicola D'Alterio, Nicla Marri, Francesca Losito, Alyexandra Arienzo, Lorenza Murgia, Giovanni Antonini, Simonetta Amatiste, Loris Leboffe, Francesco Pomilio	
Presenza di <i>Arcobacter</i> spp. in latte crudo da distributori automatici in Piemonte	17
Amaranta Traversa, Silvia Gallina, Francesca Martucci, Cvetelina Boteva, Elisa Baioni, Cristiana Maurella, Elisa Benvenuto, Irene Ferrero, Elena Ferrero, Federica Giacometti, Silvia Piva, Andrea Serraino, Lucia Decastelli	
<hr/>	
Non solo carne, pesce e latte	
<hr/>	
Monitoraggio preliminare sulla presenza di composti perfluorurati in uova prodotte in Italia in differenti sistemi di allevamento	18
Elisa Ghelli, Maria Teresa Tondo, Elisa Zironi, Giampiero Pagliuca, Federico Sirri, Teresa Gazzotti	
Rilevazione di Epatite A in insalata mista ready to eat mediante Propidium Monoazide Real Time Polymerase Chain Reaction	18
Valentina Terio, Angela Di Pinto, Alessandra Savarino, Giuseppina Tantillo	
Lombrichi edibili? Dati preliminari da un punto di vista di sicurezza alimentare	19
Cecilia Conti, Marta Castrica, Claudia Balzaretto, Dorian Tedesco	
Gestione della sicurezza alimentare 4.0	19
Luca Pizzi, Luca Cianti, Lara Tinacci, Maurizio Garniga, Alessandra Guidi	
Ultrananocluster di argento per applicazioni in campo biomedico, veterinario e alimentare	20
Luca Scotti, Domenico Paludi, Antonio Aceto, Anna Rita Festino, Tonino Bucciarelli, Maurizio Ronci	
Valutazione del tenore di Acrilamide in campioni di alimenti prelevati in Puglia negli anni 2014-17	20
Leonardo Carosielli, Francesco Lo Greco, Egidio Leonetti, Antonio Armentano, Maria C. Amenduni, Marco Barisonzo, Giovanni Corte, Nunzia Diaferia, Nicola Intini, Mariangela Palma, Nicola Sabino, Paolo Salvatori, Tiziana Santoro, Francesca Ferrieri	
Food Safety Modernization Act USA: l'Audit regolatorio come strumento di verifica della conformità all'esportazione del made in Italy	20
Claudio Gallottini, Franco Rapetti, Andrea Gentili, Enrica Alberti, Dina Sanna, Noemi Trombetti, Leonardo Natale, Giovanni La Rosa, Anna Mulargia, Ferruccio Marelo	

Sessione Poster

■ MERCOLEDÌ 12 SETTEMBRE 2018

Prodotti della pesca

Ricerca e caratterizzazione biomolecolare di microrganismi patogeni emergenti del genere <i>Arcobacter</i> spp. in molluschi bivalvi vivi allevati e commercializzati nella regione Sardegna	23
Tiziana Tedde, Laura Mara, Maria Teresa Uda, Antonio Fadda, Ivana Maida, Aldo Marongiu, Sebastiano Virgilio	
Verifica del contenuto di acidi grassi polinsaturi nel pesce fresco e post-abbattimento termico	23
Serena Meistro, Claudio Baiocchi, Marzia Pezzolato, Valentina Cambiotti, Luca Magnani, Paolo Ubaldi, Angelo Ferrari, Elena Bozzetta	
Specie tossiche invasive (famiglia <i>Tetraodontidae</i>) lungo le coste italiane: un rischio emergente per la salute pubblica	24
Andrea Armani, Lisa Guardone, Alice Giusti, Francesca Susini, Alessandra Guidi, Laura Gasperetti	
I molluschi bivalvi vivi consumati in Lombardia sono sani e sicuri? Risultati del biennio 2017-18 secondo le indicazioni dell'Accordo Stato Regioni del 10 Novembre 2016	24
Guido Finazzi, Enrico Pavoni, Barbara Bertasi, Giuseppina Andreoli, Cristina Sacchi, Silvia Colmegna, Irene Bertoletti, Marina Nadia Losio	
Analisi chemiometrica degli isotopi stabili e delle terre rare per l'autenticazione d'origine geografica e del metodo di produzione di branzini (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.)	25
Maria Olga Varrà, Sergio Ghidini, Emanuela Zanardi, Anna Badiani, Adriana Ianieri	
Valutazione della presenza del cadmio nei molluschi bivalvi e gasteropodi marini provenienti dal territorio marchigiano nel contesto nazionale	25
Ersilia Maria Epifanio, Mario Latini, Ivan Corti, Renato Malandra, Anna Rita Loschi	

Carni e derivati

Valutazione dell'impiego di HPP come trattamento letale nel processo produttivo di diverse tipologie di salame al fine di implementare i fattori intrinseci ed estrinseci che contribuiscono al controllo di <i>Salmonella</i> spp.	26
Paolo Bonilauri, Mattia Ramini, Silvia Grisenti, Elena Cosciani Cunico, Roberta Taddei, Angela Frustoli, Paolo Daminelli, Giuseppe Meriardi	
Valutazione dell'impiego di HPP come trattamento letale nel processo produttivo di diverse tipologie di salame al fine di implementare i fattori intrinseci ed estrinseci che contribuiscono al controllo di <i>Listeria monocytogenes</i> . .	27
Giuseppe Meriardi, Mattia Ramini, Silvia Grisenti, Elena Dalzini, Lia Bardasi, Angela Frustoli, Paolo Daminelli, Paolo Bonilauri	
Valutazione delle cariche microbiche su superfici a contatto con gli alimenti in macellerie abruzzesi dopo sanificazione	27
Pierina Visciano, Maria Schirone, Gabriella Di Serafino, Antonello Paparella	
Valutazione della conformità ai criteri di igiene di processo di carcasse bovine in un macello della regione Marche . .	28
Antonello Paparella, Pierina Visciano, Alberto Aldo Maria Olivastri, Maria Schirone	
Prevalenza, livelli di contaminazione e caratterizzazione di ceppi di <i>Campylobacter</i> termotolleranti isolati da suini . .	28
Guido Di Donato, Roberta Nuvoloni, Katuscia Zilli, Gabriella Parisciani, Elisabetta Di Giannatale, Gabriella Di Serafino	
Il controllo ufficiale degli additivi alimentari utilizzati nei prodotti a base di carne nell'Area Vasta n. 4 di Fermo alla luce delle nuove linee di indirizzo della regione Marche	29
Loredana Di Giacomo, Antonio Angellotti, Gabriela Cicaleni, Ezio Ferretti, Sandro Fichera, Valentina Gentili, Francesco Livini, Luigi Marilungo, Flavio Pasquali, Angeliki Riganatou, Simonetta Ruggeri, Stefano Rea	
Autocontrollo nei macelli in provincia di Bolzano nel biennio 2016-2017: applicazione del Regolamento CE n°2073/2005	29
Gloria Paolazzi, Michela Rabini, Mara Borghi, Evelin Oberkalmsteiner, Stefano Pontalti, Loredana Vedovato, Dorotea Lombardo	

Applicazione del sistema CLASSYFARM su allevamenti suinicoli da ingrasso della Lombardia: relazioni tra consumo di antibiotici, benessere e lesioni al macello	30
Sergio Ghidini, Fausto Scalfi, Silvio Borrello, Angelo Colagiorgi, Adriana Ianieri, Pierluigi Aldo Di Ciccio, Maria Olga Varrà, Emanuela Zanardi, Antonio Marco Maisano, Enrico Giacomini, Giovanni Loris Alborali	
Valutazione dell'uso di acido peracetico a concentrazioni e tempi di contatto diversificati, come presidio finalizzato a ridurre la contaminazione superficiale di carcasse suine in catena di macellazione	30
Donata Trimarchi, Massimo Castellani, Mattia Giuseppe Zorzi, Andrea Quattrone, Renzo Mioni	
Monitoraggio sanitario e valutazione del benessere di cinghiali selvatici regolarmente macellati catturati nel Parco Naturale Regionale Sirente Velino	31
Giuseppe Cotturone, Michele Podaliri, Roberta Stocchi, Francesco Pomilio, Vincenzo Cuteri, Stefania Salucci, Paola Morini, Oremo Di Nino, Francesca De Paulis, Luciano Camerlengo, Nicola Pisegna Orlando, Nadia Sulli, Berardina Costantini, Salvatore Antoci, Daniela D'Angelantonio, Luigi Iannetti, Giacomo Migliorati, Paolo Dalla Villa	
β-lattamasi a spettro esteso (ESBL) ed AmpC in <i>Escherichia coli</i> isolati da carcasse di pollo	31
Luca Fasolato, Jacopo Ferraresso, Ilias Apostolakos, Alessandra Piccirillo	
Prevalenza e caratterizzazione di <i>Listeria monocytogenes</i> nella filiera del pollo da carne	32
Luigi Iannetti, Gino Angelo Santarelli, Maria Silvia Mangieri, Vicdalia Aniela Acciari, Gabriella Centorotola, Marina Torresi, Salvatore Antoci, Violeta Di Marzio, Maria Schirone, Francesco Pomilio	
Ceppo di <i>Serratia rubidaea</i> isolato da un campione di wurstel di pollo e tacchino	32
Ilaria Del Matto, Giorgio Iannitto, Domenico Petrone, Lucio Marino, Francesco Pomilio	
Prevalenza e livelli di contaminazione da <i>Campylobacter</i> spp. in carne di pollo venduta al dettaglio in centro Italia ..	33
Salvatore Antoci, Diana Neri, Violeta Di Marzio, Gabriella Di Serafino, Francesca Marotta, Gino Angelo Santarelli, Margherita Perilli, Romina Romantini, Cristina Marfoglia, Francesco Pomilio, Elisabetta Di Giannatale	
Cross-contaminazioni durante la preparazione domestica di un'insalata di pollo: studio delle cinetiche di crescita ..	33
Anna Franca Sperandii, Patrizia Tucci, Francesco Pomilio, Giacomo Migliorati	
<hr/>	
Latte e prodotti lattiero-caseari	
<hr/>	
Presenza di <i>Arcobacter</i> spp. in ambienti di lavorazione e prodotti della filiera lattiero-casearia	34
Giovanni Terrosu, Laura Marongiu, Laura Mara, Giuseppina Porqueddu, Alida Delogu, Sebastiano Virgilio, Antonio Fadda	
Canestrato pugliese: studio sulla prevalenza dei microrganismi produttori di ammine biogene	34
Giuseppe Celano, Anna Lattanzi, Chiara Disanto, Nicoletta Cristiana Quaglia, Gaetano Vitale Celano	
Protocollo di screening per la valutazione della flora filo- ed anti-casearia nel latte crudo da destinare alla produzione di formaggio	34
Virginia Filipello, Roberto Benevenia, Lucia Mangeri, Elisa Galuppini, Marina Nadia Losio, Giorgio Zanardi, Barbara Bertasi	
<hr/>	
Non solo carne, pesce e latte	
<hr/>	
Antibiotico resistenza ed analisi dei profili di restrizione ottenuti mediante Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) di ceppi di <i>Salmonella</i> Derby, <i>S. Infantis</i>, <i>S. Typhimurium</i> e variante monofasica isolati in Abruzzo e Molise nel 2017	35
Romina Romantini, Gabriella Di Serafino, Lorena Sacchini, Diana Neri, Elisabetta Di Giannatale	
Whole Genome Sequencing: strumento di ultima generazione per lo studio della persistenza di <i>Listeria monocytogenes</i> negli ambienti produttivi	36
Giuliana Blasi, Marina Torresi, Monica Staffolani, Vicdalia Aniela Acciari, Antonio Rinaldi, Claudio Patavino, Barbara Palombo, Fabrizia Guidi	
Determinazione di <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Salmonella</i> spp. in campioni di alimenti mediante tre diverse metodiche	36
Maria Schirone, Pierina Visciano, Antonello Paparella	

Antimicrobial and anti-biofilm activities of a peptide of natural origin against foodborne pathogens: a new weapon to fight old enemies in the food industry	37
Yolande T.R. Proroga, Gianna Palmieri, Marco Balestrieri, Marta Gogliettino, Daniela Cristiano, Luca De Stefano, Ilaria Rea, Rossella Festa, Aniello Anastasio, Federico Capuano	
I controlli ispettivi in Penisola Sorrentina, dal piccolo esercizio di commercio alimentare al dettaglio alla somministrazione, dal 2013 al 2017	37
Francesco Cacace, Domenico Gigliotti, Lorenzo Piersimoni, Francesco Iannello, Francesco Boscarelli, Rosanna Bruno, Francesco Saverio Castellano, Vincenzo Rapesta, Ciro Rossi, Domenico Mollica	
Indagine sulle differenti modalità di conservazione del campione testimone nella ristorazione collettiva	37
Elisabetta Mantella, Alessandro Testa, Tiziana Civera, Francesco Chiesa, Ausilia Grassi	
Analisi della cinetica di <i>Staphylococcus aureus</i> nel processo industriale della pasta all'uovo secca	38
Daniela Bencardino, Luca Agostino Vitali	
Valutazione del rischio <i>Bacillus cereus</i> nella preparazione domestica dell'insalata di riso. Risultati preliminari	38
Enrico Novelli, Stefania Balzan, Federico Fontana, Barbara Cardazzo, Luca Fasolato	
Identificazione di spezie irradiate e caratterizzazione del segnale ESR	39
Leonardo Carosielli, Giuliana Marchesani, Michele Mangiacotti, A. Eugenio Chiaravalle	
Allergeni alimentari e informazioni volontarie in etichetta: uso e abuso del "può contenere tracce di"	39
Daniela Manila Bianchi, Elisa Barucci, Sandra Fragassi, Chiara Scordia, Daniela Adriano, Silvia Gallina, Lucia Decastelli	
Olio di palma e alimenti: analisi dei sostituenti e della percezione del rischio da parte dei consumatori	40
Francesco Chiesa, Mattia Bommaci, Linda Brunello, Giorgia Galbo, Ausilia Grassi	
Elicicoltura: storia, allevamento ed impiego delle chioccioline nel settore alimentare	40
Francesco Costanzo, Germana Giuggioli, Francesca Mamusa, Mirko Nairi, Roberto Scialla, Antonio M.G. Augello, Tiziana Zottola, Raffaele Marrone	
<i>Eisenia foetida</i> come alimento del futuro: proposta di linee guida per una produzione igienicamente sicura e sostenibile	41
Chiara Disanto, Doriana Tedesco, Claudia Balzaretto, Marta Castrica, Angela Dambrosio, Gaetano Vitale Celano	
Indagine sul livello di conoscenza e di gradimento degli insetti come "food"	41
Anna Rita Loschi, Chiara Totò, Roberta Stocchi, Antonio Angellotti, Loredana Di Giacomo	

COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

Prodotti della pesca

C001

Indagine preliminare sulla componente batterica di gasteropodi marini eduli dell'Adriatico

Patrizia Serratore, Emanuele Zavatta, Giorgia Bignami, Luna Lorito
Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Italia

Il Reg. CE 558/2010 dispone che la cattura dei gasteropodi marini, assimilati dal Reg. CE 853/2004 ai molluschi bivalvi vivi, può avvenire al di fuori delle aree classificate, in quanto non essendo filtratori non accumulano microrganismi contaminanti di origine fecale. Nonostante questo assunto, va rilevato che le conoscenze scientifiche sul microbiota dei gasteropodi marini eduli sono molto scarse, inoltre manca un metodo standardizzato per verificarne la vitalità in commercio. Lo stesso Food and Veterinary Office comunitario rileva che i Controlli Ufficiali negli Stati membri risultano totalmente assenti o comunque inappropriati. Al fine di implementare le opportune pratiche ispettive, è necessario sviluppare indagini mirate sul piano della sicurezza alimentare di questi prodotti. Il presente studio offre un primo contributo di conoscenza sulla componente batterica associata a due specie dell'Adriatico, *Nassarius mutabilis* e *Bolinus brandaris*, proponendo un metodo ispettivo per la verifica della vitalità. Complessivamente sono stati analizzati 21 lotti di *Nassarius mutabilis* e 7 di *Bolinus brandaris*. La vitalità è stata verificata mediante aspersione con sale da cucina, metodo messo a punto dal nostro laboratorio. Le unità campionarie, dopo accurato risciacquo in acqua marina sterile, sono state sottoposte ad analisi batteriologiche: enumerazione di *Vibrio* spp., come componente autoctona, su Thiosulfate-Citrate-Bile salts-Sucrose Agar NaCl 3% finale, incubato a 20°C per 3-5 gg; ricerca mirata di *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae* e *V. alginolyticus* su CHROMagar *Vibrio* incubato a 37°C per 24 h, e caratterizzazione fenotipica e genomica degli isolati (metodo interno); enumerazione di *E. coli*, come criterio di sicurezza, con metodo ISO 16649-2:2001. Tutti i lotti acquisiti direttamente dal produttore hanno rivelato odore di salso o neutro e gli animali hanno reagito immediatamente all'aspirazione con sale con estroflessione del piede e movimenti attivi (*Nassarius*) o abbondante emissione di schiuma (*Bolinus*), presentando valori medi di *Vibrio* spp. simili, rispettivamente 5,34 log₁₀ e 5,79 log₁₀. Tra i lotti di *Nassarius* reperiti in commercio (N=17), il 47% (N=8) ha rivelato odore salso pungente o nettamente sgradevole, con reazione al sale molto scarsa o assente, presentando valori medi di *Vibrio* spp. pari a 6,53 log₁₀. Tutti i campioni sono risultati negativi per *E. coli*, *V. vulnificus* e *V. cholerae*, ma positivi per *V. alginolyticus*. Un campione di *Bolinus* è risultato positivo per *V. parahaemolyticus*, con genotipo potenzialmente patogeno

(ToxR+, tdh+). I lotti di entrambe le specie reperiti alla produzione sono risultati tutti vitali, mentre il 47% dei lotti di *Bolinus* reperiti in commercio è risultato non conforme, in quanto composto in prevalenza o totalmente da individui morti. La mancata evidenziazione di *E. coli* pare giustificare il disposto del Reg. CE 558/2010. Tuttavia, i valori medi relativi a *Vibrio* spp. del prodotto vitale, ed ancor più del prodotto disvitalizzato/morto, sono risultati superiori a quelli riscontrati nel bivalve *R. philippinarum* nel medesimo areale, pari a 4,69 log₁₀. In termini di sicurezza alimentare, questa condizione di polimicrobismo in animali non filtratori necessita di ulteriori studi, sia in relazione ai target potenzialmente patogeni che in relazione ai possibili effetti del catabolismo batterico aspecifico in relazione alla produzione di amine biogene.

C002

Caso-studio di sviluppo della procedura di campionamento per la ricerca dei tenori rappresentativi del mercurio in una partita di tonni di mattanza

Pierluigi Piras¹, Antonio Assaretti¹, Gianuario Fiori², Andrea Sanna², Giannina Chessa²

¹Azienda per la Tutela della Salute, Dipartimento di Prevenzione Sud Sardegna, Cagliari; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Laboratorio di Chimica Ambientale e Tossicologia, Sassari, Italia

La contaminazione da mercurio (Hg) nei prodotti ittici, in particolare nei grandi predatori pelagici come i tonni, è un problema rilevante per i riflessi sanitari e che impatta sulle attività che dalla pesca traggono sostentamento e reddito, come le ultime tonnare fisse italiane ancora attive nelle coste della Sardegna sud-occidentale. Nelle tradizionali tonnare di Porto Paglia, Capo Altano e Carloforte, dislocate nell'area sottesa tra Gonnese, Portoscuso e l'isola di San Pietro, si continua infatti a svolgere la mattanza del tonno (*Thunnus thynnus*) che, oltre a dare ristoro all'industria locale del settore ittico, rappresenta un indiscusso elemento identitario per la popolazione dell'intera area. Attraverso il campionamento ufficiale in due tempi, prima dell'intero quantitativo in cella nel 2017 e poi di un solo lotto riferito a Porto Paglia, sono stati riscontrati tenori di Hg eccedenti i limiti di legge, che hanno portato al sequestro cautelativo della partita. Tale riscontro analitico non ha trovato conferma nel referto del laboratorio di parte, con tenori decisamente inferiori di quelli ammessi, né con l'esame di revisione dell'ISS, che ha reso valori, per quanto sfavorevoli, ancora significativamente differenti dai precedenti. Considerato come l'azione di controllo ufficiale e la stessa credibilità dell'autorità competente fosse stata nel contesto messa in discussione, scopo di questo breve contributo è quello di evidenziare, a fronte della ipotizzata rilevante incertezza di misura dovuta ad una scorretta o inappropriata procedura di campionamento, come ci si sia dedicati ad un approfondimento di studio delle variabili legate alla, verosimilmente considerevole, distribuzione disomogenea di Hg nelle partite e nei singoli tonni, al fine di

definire una procedura di campionamento effettivamente rappresentativo, quindi affidabile e ripetibile, delle partite oggetto di controllo per i tenori di Hg. La partita di tonni di mattanza di Porto Paglia è stata ricampionata nel 2018, suddividendo la stessa in sottopartite col criterio del peso dei tonni e applicando, in due distinte fasi, le previste procedure di costituzione dei campioni globali (ma introducendo un elemento di maggior rigore con l'individuazione di una specifica area muscolare centro-dorsale per il prelievo da ciascun filone), nonché di pre-analisi previste ai punti B.1.6 e C.2.4 dell'allegato al Regolamento (CE) n. 333/2007 in caso di controversia e di procedure arbitrali. Per l'analisi delle rispettive aliquote, singolarmente omogeneizzate, sono stati applicati i metodi EPA3052 ed EPA6020A mediante tecnica ICP-MS. I rapporti di prova dei campioni delle sottopartite ricampionate con la procedura così come revisionata dai Servizi Veterinari del competente Dipartimento di Prevenzione Sud Sardegna, in accordo col Laboratorio di Chimica Ambientale e Tossicologia dell'IZS della Sardegna, hanno dato esito favorevole per riscontro di tenori di Hg, seppur molto prossimi a quelli limite (con 0,972 mg/kg nella sottopartita degli esemplari relativamente più piccoli e 0,842 mg/kg in quella dei più grossi), comunque entro i valori di conformità per i tonni. La revisione della procedura di campionamento, con l'introduzione di elementi di maggior rigore, compresa l'individuazione di una specifica area muscolare centro-dorsale di prelievo, intende fornire un contributo per la corretta operatività nel campionamento rappresentativo di partite di tonni per la ricerca dei tenori di Hg.

C003

Valutazione dei metodi di campionamento ufficiali definiti dall'Unione Europea nei confronti del mercurio nei prodotti della pesca utilizzando un modello probabilistico

Cesare Ciccarelli¹, Melina Leinoudi², Angela Marisa Semeraro¹, Vittoria Di Trani¹, Giuseppe Angelozzi¹, Elena Ciccarelli³, Ivan Corti⁴

¹ASUR Marche Area Vasta 5, Ascoli Piceno, San Benedetto del Tronto, Italia; ²Chimico, Reading (UK); ³Biologo, Valencia (Spagna); ⁴Veterinario, Milano, Italia

Il mercurio (Hg), nella sua forma metilata, è un contaminante presente nella catena alimentare in maniera significativa e i pesci ne rappresentano la principale fonte di contaminazione per l'uomo, causando gravi disturbi in alcuni gruppi di popolazione quali bambini e donne in gravidanza. I processi di bioconcentrazione e biomagnificazione fanno sì che il contenuto di Hg possa variare, anche in maniera notevole, tra specie ittiche diverse e all'interno della stessa specie tra soggetti diversi: in genere i livelli più elevati si rilevano nelle specie predatrici. Il suo controllo è rilevante per la sicurezza alimentare e l'Unione Europea ha fissato stringenti limiti massimi ammissibili nelle specie ittiche e, dato il ruolo cruciale, ha definito precisi metodi di campionamento e di analisi. Questo studio, utilizzando un modello probabilistico indipendente dai metodi analitici, intende valutare le performances del metodo di campionamento determinandone la probabilità di ottenere risultati non conformi ai limiti fissati. L'Unione Europea ha stabilito le modalità di campionamento definendo il campione elementare (CE), materiale prelevato da un singolo punto della partita, ed il campione globale (CG), ottenuto unendo tutti i CE, considerato rappresentativo della partita. Il numero minimo di CE da raccogliere (3, 5 o 10) è in funzione delle dimensioni della partita. Assumendo l'equiprobabilità di prelevare i CE costituenti la partita, è stato costruito un modello probabilistico, coerente con gli assiomi della Teoria della Probabilità

di Kolmogorov, basato sui parametri: numero di CE non conformi, numero di CE da prelevare, numero di CE costituenti la partita, probabilità di prelevare un CE conforme o non conforme. La probabilità di risultati non conformi è stata calcolata su una serie di partite virtuali costruite ipotizzando differenti dimensioni e diversi scenari di contaminazione. Determinando il contenuto medio di Hg delle partite virtuali ipotizzate è stato quantificato il numero di risultati falsi positivi (FP) e falsi negativi (FN) ottenibili. Infine è stata calcolata la probabilità di ottenere risultati non conformi analizzando più campioni globali prelevati dalla stessa partita. I dati ottenuti hanno evidenziato come: la probabilità di ottenere risultati non conformi non è influenzata dalle dimensioni della partita da campionare; tale probabilità è direttamente proporzionale al livello di contaminazione della partita ma non al numero di CE prelevati: infatti con 10 CE la probabilità è generalmente inferiore rispetto a quella con 3 CE o 5 CE; il metodo di campionamento non è in grado di evidenziare risultati non conformi quando i livelli di contaminazione sono elevati e la prevalenza dei CE non conformi non supera il 40%: in queste situazioni il numero di falsi negativi può essere anche molto elevato; l'incremento del numero di CG aumenta in maniera estremamente significativa la probabilità di risultati non conformi. Lo studio, basato su un modello probabilistico, ha consentito di valutare le performances del metodo di campionamento, previsto dall'Unione Europea per la ricerca di Hg nelle specie ittiche, gettando le basi per la definizione di strategie di miglioramento del metodo. Inoltre i risultati consentono anche una più corretta interpretazione dei risultati analitici utilizzati nell'analisi del rischio da Hg e nella valutazione dell'esposizione del consumatore.

C004

Presenza di parabeni in differenti tipologie di pesci ed implicazioni ai fini della sicurezza alimentare

Maria Nobile, Sara Panseri, Francesco Arioli, Elisa Pasquale, Claudia Balzaretto, Marta Castrica, Luca Maria Chiesa

Dipartimento di Scienze veterinarie per la salute, la produzione animale e la sicurezza alimentare, Università di Milano, Italia

I parabeni sono degli additivi molto diffusi in numerosi cosmetici e prodotti per l'igiene personale, in alcuni farmaci e alcuni prodotti alimentari. In ambito alimentare l'etil-parabene (E214), il sale sodico etile-p-ossibenzoato (E215), il metil-parabene (E218) e il sale sodico metil-p-idrossibenzoato (E219) sono ammessi nell'Unione europea singolarmente o in combinazione come additivi in alcune categorie di alimenti trasformati. Sono autorizzati per l'uso *quantum satis* (ossia secondo le buone pratiche di fabbricazione basate sul livello richiesto per ottenere l'effetto desiderato) per il trattamento superficiale dei prodotti a base di carne secca; con un livello massimo consentito di 1 g/kg in gelatina di prodotti a base di carne come il paté; in prodotti di confetteria, escluso il cioccolato, e in salatini e snack pronti al consumo a livelli di 0,3 g/kg; in integratori alimentari liquidi dietetici a livelli di 2 g/kg. Sono vietati invece il propil-parabene (E216) e il sale sodico metil-p-idrossibenzoato (E217). Questi additivi, utilizzati da oltre 70 anni agiscono da conservanti, svolgendo una funzione antibatterica e antifungina in grado di ritardare il processo di decomposizione dei prodotti, dovuto all'azione di microbi e funghi. In tal modo consentono di mantenere integri e di ritardare la scadenza dei prodotti inscatolati a lunga conservazione (solitamente quelli a base di carne con gelatina) e dei cosmetici. Essi ad oggi si trovano essenzialmente nel comparto acquatico, per il loro diffuso impiego in cosmetici e farmaci

che vengono poi riversati nelle acque e infine nei mari, e quindi potenzialmente riscontrabili nella filiera ittica. A questo proposito, bisogna precisare che la loro presenza negli alimenti può essere volontaria, in qualità di additivi, e involontaria a seguito della dispersione nell'ambiente dovuta agli altri usi non alimentari. Essenziale e raccomandato dall'EFSA è condurre monitoraggi che possano identificare nelle diverse filiere le potenziali fonti di contaminazione ai fini della sicurezza alimentare. Sono stati raccolti 60 campioni di differenti specie di prodotti della pesca (merluzzo, acciuga, sardina, spigola, coda di rospo, cozze, orata, salmone, gambero, seppia, platessa, pesce spada, sgombro, sogliola, tonno, trota) allevati e pescati o allevati di differente provenienza geografica in modo da dare un'overview sulla distribuzione di metil-, etil-, propil-, butil-, benzyl-parabene e acido 4-idrossi benzoico, quale maggiore prodotto di degradazione. Lo sviluppo di un semplice protocollo analitico basato su un'unica estrazione liquida con acetonitrile allo 0,1% di formico, seguita da una rimozione dei lipidi in esano si è dimostrata veloce e versatile per le differenti specie analizzate. L'analisi strumentale attraverso cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa ad alta risoluzione Orbitrap (HPLC-HRMS) hanno contribuito all'elevata selettività, specificità e sensibilità del metodo analitico grazie alla sua potenza di risoluzione e velocità di scansione. Sono stati ritrovati il metil-parabene (40%), l'etil-parabene (3%) e l'acido idrossibenzoico (70%) con una prevalenza maggiore in molluschi bivalvi, seguiti da tonno, trota e salmone principalmente in pesci allevati. Lo studio è importante ai fini tossicologici perchè sono degli interferenti endocrini. Ulteriori approfondimenti verranno condotti per ottenere informazioni esaurienti sulle concentrazioni di metaboliti nelle matrici di interesse.

Non solo carne, pesce e latte

C005

Studio sulle comunità microbiche di spugne da cucina: evidenza di *Cronobacter sakazakii* e di batteri ESBL

Stefania Maria Marotta, Filippo Giarratana, Anastasia Calvagna, Graziella Ziino, Alessandro Giuffrida, Antonio Panebianco

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Messina, Polo Universitario dell'Annunziata, Messina, Italia

L'ambiente domestico e soprattutto quello della cucina è, notoriamente, un'importante fonte di contaminazione microbica. Le spugne da cucina, in particolare, rappresentano un rilevante veicolo di trasmissione per diverse specie batteriche d'interesse igienistico. Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare le comunità microbiche di 100 spugne da cucina "in uso", con particolare riguardo alla ricerca di batteri agenti di tossinfezione alimentare e alla prevalenza di Enterobatteri ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamase). I campioni sono stati processati per la determinazione della Carica Batterica Aerobica Totale (CBT) secondo la UNI EN ISO 4833-1:2013, delle *Enterobacteriaceae* (EB) secondo la UNI EN ISO 21528-2:2017, dei Lieviti e delle Muffe (YM) secondo la UNI EN ISO 21527-2:2008, degli Stafilococchi coag. + (CPS) e dei Micrococchi (MCC) secondo la UNI EN ISO 6888-1:2004, degli anaerobi solfito-riduttori (ASR) su Sulfite-Polymyxin-Sulfadiazina agar incubato in anaerobiosi a 37°C per 24h e per la ricerca di *Listeria monocytogenes* secondo la UNI EN ISO 11290-1:2017, di *Salmonella* spp. secondo la UNI EN ISO 6579-1:2017 e *Yersinia enterocolitica* secondo la UNI EN ISO 10273:2003. Un totale di 309 ceppi appartenenti alle *Enterobacteriaceae* sono stati, inoltre, identificati mediante tecnologia MALDI-TOFF, e processati per la valutazione dell'espressione fenotipica delle β lattamasi (ESBL). Il carico contaminante delle spugne si è rilevato in media piuttosto alto (CBT $8,25 \pm 1,1$ 1 log UFC/g; EB $5,89 \pm 1,2$ 1 log UFC/g; YM $5,57 \pm 1,1$ 1 log UFC/g; MCC $4,82 \pm 0,1$ log UFC/g). Le *Enterobacteriaceae* più frequenti appartenevano alle specie *Enterobacter cloacae* (28%), *Citrobacter freundii* (23.3%) e *Cronobacter sakazakii* (14.6%). *L. monocytogenes* è stata isolata solo in un campione. Il 22,3% degli enterobatteri sono risultati ESBL+; in particolare: *Providencia rettgeri* (50%), *Leclercia adeno-carboxilata* (30%), *Klebsiella pneumoniae* (25%), *Klebsiella oxytoca* (25%), *C. sakazakii* (20%), *E. cloacae* (20.7%) e *C. freundii* (20.1%). I risultati ottenuti confermano la potenziale pericolosità delle spugne da cucina e si sottolinea il frequente isolamento di *C. sakazakii*, spesso ESBL+, noto agente di malattia alimentare nei lattanti.

C006

Conformità agli obblighi informativi precontrattuali nella vendita a distanza (B2C) di prodotti alimentari preimballati. La spesa on line nella GDO italiana

Gaetano Liuzzo¹, Silvia Rolandi², Federica Giacometti³, Silvia Piva³, Andrea Serraino³

¹A.U.S.L. Modena; ²Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa; ³ Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Italia

L'offerta e la vendita di alimenti online sono in aumento. Il valore

dell'e-commerce in Europa è stato stimato a 602 miliardi di euro nel 2017 e sono 324 milioni le persone che effettuano acquisti online nel vecchio continente. I paesi che hanno visto crescere l'e-commerce market più velocemente negli ultimi cinque anni nell'area Europea sono Olanda e Italia. In Italia la diffusione dell'online ha raggiunto l'89,9% della popolazione tra gli 11 e i 74 anni, con 43 milioni di italiani che dichiarano di poter accedere a Internet da location fisse o da mobile. Nella distribuzione del fatturato e-commerce fra i settori che sono cresciuti maggiormente in termini di fatturato quello alimentare ha registrato un +24%. Il quadro normativo che regola la vendita a distanza di prodotti alimentari è riconducibile a due pilastri fondamentali, la normativa in materia di commercio elettronico e quella in materia di informazione sugli alimenti ai consumatori. Con quest'ultimo regolamento, il legislatore comunitario stabilisce, fra l'altro, che le informazioni obbligatorie ai sensi dell'art. 9 del Reg.(UE) 1169/2011, devono essere messe a disposizione del consumatore, oltre che al momento della consegna, anche prima della conclusione del contratto attraverso il quale i prodotti alimentari vengono acquistati on line. L'indagine ha voluto verificare: il livello di conformità agli obblighi informativi, la disponibilità e leggibilità delle informazioni, nel settore dell'e-commerce alimentare nella GDO (Grande Distribuzione Organizzata). Con l'intento di valutare la disponibilità e leggibilità delle informazioni, per ogni sito dedicato alla spesa on line dei dieci maggiori gruppi italiani della GDO, sono analizzati i dati riguardanti: il numero di click necessari per individuare il prodotto alimentare dal sito di spesa on line, il numero di click necessari per ottenere tutte le informazioni disponibili ai sensi dell'art. 9 del Reg.(UE) 1169/2011. I risultati ottenuti testimoniano una sostanziale ottemperanza agli obblighi informativi dettati dal regolamento comunitario in materia di informazioni al consumatore. Discorso diverso per disponibilità e leggibilità delle informazioni. Il percorso necessario all'utente per ottenere le informazioni necessarie ad una scelta consapevole sono articolate e richiedono un numero di click elevato, mentre l'acquisto del prodotto è realizzabile, una volta individuato il prodotto, immediatamente, senza essere obbligati ad usufruire delle informazioni obbligatorie.

C007

L'evoluzione dei controlli nella ristorazione della penisola sorrentina

Domenico Mollica¹, Francesco Cacace², Rosanna Bruno¹, Francesco Saverio Castellano¹, Vincenzo Rapestà¹, Andrea Mancusi³, Angela Giordano³, Yolande T.R. Proroga³

¹ASL Napoli 3 Sud, U.O. Vet. 59 Penisola Sorrentina, Servizio Ispezione degli Alimenti di O.A., Napoli; ²Scuola di Specializzazione in Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli ³U.O.S. Microbiologia e Biotecnologie Alimentari, Dipartimento Ispezione Alimenti, IZSM, Portici (NA), Italia

Da diversi decenni lo stile di vita di gran parte delle famiglie è profondamente cambiato determinando una crescente necessità di consumare pasti al di fuori delle mura domestiche. Oggi la ristorazione, con 41 miliardi di euro di valore aggiunto, è il settore trainante della filiera agroalimentare italiana, più importante di Agricoltura e Industria Alimentare. In questo contesto la Penisola Sorrentina è un punto di riferimento nazionale ed internazionale, relativamente alla ristorazione di tipo commerciale, con i suoi oltre 600 punti di somministrazione a fronte di una popolazione stanziale di circa 80000 persone ed 1 milione di turisti ogni anno. Sul territorio sono

presenti 11 ristoranti stellati, che fanno del turismo enogastronomico uno dei punti di forza di questo luogo. Una attività così imponente necessita di un controllo continuo e capillare, i Servizi Veterinari si occupano attivamente da oltre 25 anni al controllo ufficiale della ristorazione. Questo ancor prima dell'emanazione della norma specifica (D.P.C.M. 29/11/2001) con la quale veniva assegnato al Servizio Veterinario del SSN il controllo degli alimenti di origine animale anche nelle fasi di somministrazione. Lo scopo del lavoro è descrivere l'evoluzione dei controlli rilevata in questo settore, raccogliendo i dati di 15 anni di attività, valutando l'incidenza delle violazioni penali ed amministrative che sono state riscontrate sia per la ristorazione commerciale che per quella sociale. Sono state condotte 2000 ispezioni con i seguenti risultati: n° 79 sequestri amministrativi e n° 47 penali, per un totale di oltre 6 tonnellate di merce sequestrata nella ristorazione commerciale mentre nella ristorazione collettiva è stato effettuato un solo sequestro amministrativo pari a 15 kg merce distrutta. Tra il 2012 e il 2017 sono stati effettuati anche esami microbiologici sugli alimenti prodotti nell'ambito della ristorazione sia commerciale che sociale. Complessivamente sono stati effettuati 181 prelievi campioni per indagini microbiologiche di prodotti preparati, riscontrando solo 8 non conformità relativa ad indicatori di igiene di processo, due nella ristorazione collettiva o sociale, e sei in quella pubblica o commerciale. In conclusione si evidenzia un miglioramento progressivo della qualità della ristorazione, sono ancora presenti alcune criticità nell'ambito delle procedure di tracciabilità e nella conservazione degli alimenti. Questo ci porta a sottolineare la necessità di garantire continuità all'attività di formazione ed informazione capillare di tutto il personale addetto alla ristorazione. Deve essere mantenuto alto il livello di guardia dei controlli ufficiali in questo settore cardine dell'economia italiana.

C008

Valutare l'efficacia di interventi informativi in materia di sicurezza alimentare a volontari delle strutture caritative

Daniela Manila Bianchi¹, Ilaria Giorgi², Fabio Zuccon¹, Chiara Scorcio¹, Donatella De Somma², Valeria D'Errico¹, Adolfo Muzzani³, Vilma Soncin³, Salvatore Collarino³, Lucia Decastelli¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, SC Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Torino; ²SC Epidemiologia e Osservatorio Epidemiologico, Torino; ³Banco Alimentare Piemonte Onlus, Moncalieri (TO), Italia

Il presente lavoro riporta i risultati della valutazione dell'efficacia di interventi informativi in tema di sicurezza alimentare, somministrati al personale volontario operante nelle strutture caritative di ridistribuzione di cibo. In Italia, il Banco Alimentare Onlus coordina una rete di 8.000 strutture caritative per il sostegno di 1.600.000 indigenti con 67.000 tonnellate di alimenti distribuiti. Con l'entrata in vigore della legge 166/2016 è possibile redistribuire a fini caritativi alimenti che abbiano superato il termine minimo di conservabilità, a patto che si presentino integri e siano stati conservati correttamente. Alla luce di questa possibilità, è evidente che i volontari operanti nelle strutture devono avere chiari i principi di igiene e sicurezza alimentare. Nel periodo marzo - giugno 2018, la SC Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta è stata chiamata ad organizzare e tenere un corso informativo, per i volontari delle 600 Strutture Caritative convenzionate con il Banco Alimentare del Piemonte. L'obiettivo del corso era sensibilizzare i volontari sul tema

della sicurezza alimentare, delle buone pratiche igieniche e sulle corrette prassi gestionali per garantire continuità alla catena del freddo e, quindi, un elevato livello di sicurezza dei pasti redistribuiti a fini sociali. Le lezioni, interattive e di 3,5 ore ciascuna, si sono tenute nelle sedi di Moncalieri, Biella, Asti, Vercelli, Alessandria, Fossano, Novara. In 5 edizioni è stato somministrato un questionario prima e dopo il corso, per verificare, rispettivamente, il livello di competenza dei partecipanti e l'efficacia dell'attività formativa. Il questionario era composto da 11 domande, ciascuna con una o più possibili risposte corrette. Le prime cinque domande riguardavano gli aspetti legislativi di sicurezza e redistribuzione degli alimenti; le ultime sei, invece, erano riferite alla sicurezza, igiene e gestione della redistribuzione dei pasti. Le risposte sono state inserite in un database e analizzate con software STATA15.1. È stata valutata la Normalità della distribuzione dei dati, e sono stati utilizzati il test di Wilcoxon e il coefficiente di correlazione intraclasse (ICC) per valutare la concordanza degli esiti prima e dopo il corso. Sono stati somministrati in totale 204 questionari. Prima del corso solo il 22% dei partecipanti ha totalizzato un punteggio sopra la sufficienza, mentre dopo aver partecipato al corso, le risposte corrette sono aumentate (numero di sufficienze 69%). L'87,3% dei discenti ha ottenuto un punteggio più alto rispetto a quello ottenuto prima della formazione, il 4% non ha avuto variazioni, mentre per l'8,7% di loro il punteggio è peggiorato. Il miglioramento più rilevante è stato ottenuto nella parte di igiene e gestione degli alimenti: l'81% dei partecipanti ha incrementato il numero di risposte corrette; nella parte legislativa il miglioramento è stato del 64%; la domanda sulle buone prassi igieniche preventive alla manipolazione di alimenti ha ottenuto un incremento da 77 a 162 risposte corrette. Il confronto del punteggio ottenuto da ciascun partecipante prima e dopo la formazione ha evidenziato una notevole discordanza $ICC=0,28$ (IC 95% 0,09 - 0,47). La frequenza al corso di formazione ha portato a un miglioramento delle conoscenze riguardo agli argomenti trattati, soprattutto relativamente all'igiene e conservazione degli alimenti.

C009

Introduzione del metodo nudging per la riduzione dello spreco alimentare in una Casa Circondariale e Penitenziaria - Risultati preliminari

Vesna Milicevic¹, Rosa La Ginestra², Marta Castrica³, Sabrina Ratti³, Claudia Balzaretto³, Giampaolo Colavita⁴

¹Agenzia di Tutela della Salute Città Metropolitana di Milano, Dipartimento di Igiene e Prevenzione Sanitaria, Milano; ²Istituto penitenziario - Casa Circondariale e Reclusione Larino (CB), Ministero della Giustizia; ³Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Milano; ⁴Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute "Vincenzo Tiberio", Università del Molise, Campobasso, Italia

Lo scopo di questo studio è stato quello di analizzare i diversi aspetti dello spreco alimentare nel contesto specifico di un Istituto penitenziario, coinvolgendo il personale e gli ospiti della struttura, con un approccio basato sul metodo nudging. Dopo aver condiviso metodologia e tempi con la Direzione della Casa Circondariale e reclusione di Larino (CB), lo studio ha coinvolto n. 50 partecipanti su un totale di circa 200 reclusi. Ai partecipanti sono state fornite informazioni sull'argomento, stimolandoli alla partecipazione, alla consapevolezza e a proporre soluzioni creative ed efficaci per ridurre/eliminare lo spreco di cibo. In particolare sono stati raccolti dati

mediante n.3 questionari: il primo relativo alla conoscenza del fenomeno dello spreco alimentare; il secondo riguardante le informazioni circa la tipologia e l'entità degli alimenti sprecati ed il terzo per la raccolta delle proposte per la riduzione dello spreco di cibo. Dall'analisi dei dati raccolti si è rilevato che i partecipanti allo studio hanno un'età compresa tra 20 e 60 anni, prevalentemente con titolo di studio di scuola media superiore e per il 76% di nazionalità italiana. Per lo più sono venuti a conoscenza del fenomeno dello spreco alimentare attraverso la televisione ed il 96% si è dichiarato disponibile ad approfondire l'argomento e a dare un contributo proattivo. Oltre agli alimenti forniti dall'amministrazione penitenziaria secondo un capitolato di acquisto, i detenuti possono ricevere alimenti sia dalle famiglie, in occasione dei colloqui periodici, ma possono anche acquistarli. Gli alimenti che maggiormente vanno sprecati sono il pane (35%), la pasta (27%) e la frutta fresca (20%); in particolare quelli forniti dall'amministrazione perché ritenuti di minore qualità o mal cucinati. Molto contenuto, invece, è lo spreco degli alimenti ricevuti da casa e/o acquistati, per i quali sono prevalenti le ragioni affettive ed economiche. Comunque, anche per questi sono emerse criticità in merito alle modalità di conservazione ed utilizzo. La stragrande maggioranza (96%) dei partecipanti ha evidenziato sensibilità circa le ragioni etiche ed economiche alla base della lotta allo spreco alimentare, dichiarandosi disponibile a dare un contributo alla sua riduzione e suggerendo alcune iniziative tra cui: donare gli alimenti non consumati; migliorare la qualità dei prodotti forniti dall'amministrazione e cucinarli meglio; ottimizzare il menu giornaliero in base alla effettiva necessità; favorire la cucina del riuso. Altri suggerimenti hanno riguardato il potenziamento della dotazione di frigoriferi e congelatori, la disponibilità di attrezzature per il sotto vuoto, ma anche la necessità di una migliore informazione circa le modalità di conservazione degli alimenti, le misure igieniche per una corretta manipolazione e i metodi di preparazione e manipolazione degli alimenti, a causa di una limitata conoscenza delle buone pratiche igieniche. Infine, i risultati dello studio, ancorché preliminari, dimostrano che l'approccio "nudging" ha consentito di sensibilizzare gli ospiti dell'istituto penitenziario circa l'importanza sociale, etica ed economica della riduzione dello spreco alimentare e stimolare un atteggiamento proattivo nel fornire proposte per la riduzione dello stesso. I dati raccolti indicano anche la necessità di implementare azioni finalizzate ad una corretta conservazione del cibo e alla promozione di buone pratiche igieniche.

C010

Italian sounding: rischio sanitario o commerciale?

Emanuele Guidi, Federica Boggio, Marina Perri

AUSL Modena, Italia

Da sempre la commercializzazione dei prodotti contraffatti incide sulla sicurezza e la salute dei consumatori ma anche sull'economia del paese poiché l'imitazione fraudolenta di un prodotto può anche provocare deviazione del traffico commerciale e fenomeni di concorrenza sleale. I prodotti made in Italy rappresentano un settore molto importante che, nonostante la crisi, con 25 miliardi di euro contribuiscono in modo considerevole (circa il 7%) alle esportazioni nazionali. L'usurpazione di identità di altri prodotti avviene di norma in due modi: con l'utilizzo di materie prime e/o procedimenti diversi da quelli previsti e con la falsificazione di alcuni elementi esteriori - marchio, packaging e design. In entrambi i casi lo scopo è di conferire al prodotto una falsa identità per trarre in inganno il consumatore. Il fenomeno dell'italian sounding si basa sulla capacità di

proporre al consumatore prodotti che, indipendentemente da qualità, gusto e luogo di produzione, siano associati ad un elemento "tipicamente" italiano. Può trattarsi di un nome simile a quello del prodotto originario (ad esempio il Parmesan), dal nome della marca (nomi di fantasia di matrice linguistica italiana) come pure dell'utilizzo, nel packaging e nell'etichetta, di accordi di colori che richiamano esplicitamente l'Italia (ad esempio l'uso del tricolore). A differenza della contraffazione propriamente detta l'italian sounding è difficilmente sanzionabile legalmente proprio perché nei vari mercati in cui viene attuato, si adottano comportamenti consentiti e non contrari alla legge. Nella relazione sulla contraffazione nel settore agroalimentare della Commissione parlamentare di inchiesta sui fenomeni della contraffazione si legge che a livello mondiale, si stima che il giro d'affari dell'italian sounding superi i 60 miliardi di euro l'anno (164 milioni di euro al giorno). Scopo del presente lavoro è stato quello di affrontare da un punto di vista legislativo il problema, anche nell'ottica del sempre crescente commercio online e di proporre soluzioni. A conclusione della ricerca effettuata si ritiene fondamentale nella prevenzione del fenomeno l'attività delle aziende in qualità di responsabili dell'informazione al consumatore e nel contempo l'azione preventiva e repressiva del controllo ufficiale anche alla luce del recente Regolamento 625/2017.

C011

Analisi preliminare dei dati rilevati durante gli audit di controllo nelle principali aziende italiane della Grande Distribuzione Organizzata

Giacomo Rovelli, Lucia Minola, Lisa Vallone

Dipartimento Vespa, Università degli Studi di Milano, Italia

Il testo legislativo del Pacchetto Igiene, Regg. N. 852/2004, 854/2004, regola gli obblighi degli OSA e delle aziende operanti nel settore alimentare, definendo in modo preciso le loro responsabilità nei confronti del consumatore. L'obiettivo è l'immissione sul mercato di alimenti sani e sicuri per la salute umana. In questo elaborato si analizza un archivio di 3 anni (gennaio 2014 - dicembre 2017) e vengono prese in considerazione 27 aziende alimentari italiane, proprietarie dei principali brevetti e brand distribuiti nella Grande Distribuzione Organizzata nazionale. I dati presi in esame sono il risultato degli audit e ispezioni che si svolgono regolarmente all'interno delle aziende. I controlli riguardano diversi aspetti: i locali di produzione, le attrezzature, il trasporto degli alimenti, il personale, la gestione dei rifiuti ed il confezionamento. Le maggiori incongruenze (27%) sono state rilevate nel settore produttivo e logistico. Sette aziende hanno evidenziato problematiche lungo la catena di produzione, in particolare, riguardo al mantenimento della catena del freddo. Infatti, in quest'ambito, lo stoccaggio ed il trasporto rappresentano i punti critici di controllo principali (83%). In particolare, sono critici i "tempi morti" che intercorrono tra le fasi di produzione, stoccaggio e attesa di carico sugli automezzi delegati al trasporto. Al contrario, invece, il 100% delle aziende sottoposte a controllo ispettivo, al fine di garantire ai consumatori una più adeguata informazione sull'etichettatura in materia di allergeni, adotta sistemi di controllo e rintracciabilità nel rispetto del Regolamento UE 1169/2011. L'eliminazione di proteine allergeniche, previo trattamento delle superfici e delle attrezzature con acqua ad alte temperature o vapore, è garantita, nel 72% dei casi, mediante lavaggio energico e, nel 68% dei casi, con l'applicazione di detergenti specifici. Impianti ed apparecchiature concepiti per una pulizia e sanificazione completa, rappresentano il punto di par-

tenza per controllare con successo la contaminazione potenziale da allergeni. Nel 94% dei casi, le aziende dispongono di dati chiamati "Dose-Risposta" al fine di poter stabilire limiti di accettabilità sotto i quali la presenza di una determinata sostanza in un alimento non rappresenta ragionevolmente un pericolo per il consumatore. Al fine di fornire un contributo all'analisi del rischio sono state realizzate dall'89% delle aziende tabelle riassuntive delle forme allergiche più comuni per ognuno degli allergeni previsti, riportando informazioni relative a prevalenza e gravità dell'allergia. In ambito di valutazione del rischio va sottolineato che, aziende appartenenti allo stesso brand, ubicate in diverse zone d'Italia, adottano dati "Dose - Risposta" differenti, in relazione alla distribuzione geografica e alle sensibilità legate alle differenti abitudini alimentari. Con questo lavoro ribadiamo la validità dello strumento "audit" per far emergere le problematiche a tutt'oggi esistenti nelle aziende di produzione alimentare; in secondo luogo, riteniamo di estrema necessità la formazione e l'aggiornamento dell'OSA relativamente alla normativa cogente.

Carni e derivati

C012

Indagine epidemiologica relativa alla prevalenza di *Salmonella* spp. e *Salmonella tiphimurium* variante monofasica nella filiera carnea suina in Sardegna mediante screening in PCR-real time

Carlo Pala¹, Tiziana Tedde¹, Sara Salza¹, Maria Teresa Uda¹, Stefano Lollai², Vittoria Carboni², Antonio Fadda¹, Edoardo Marongiu¹, Sebastiano Virgilio¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Struttura Complessa Sicurezza Alimentare; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Struttura Complessa Sanità Animale, Sassari, Italia

Lo scopo dello studio è stato quello di valutare la prevalenza di *Salmonella* spp. nella filiera carnea suina della regione Sardegna al fine di determinare l'incidenza della nuova variante monofasica di *Salmonella typhimurium* mediante l'utilizzo di metodiche colturali e biomolecolari. I campionamenti sono stati eseguiti presso alcuni stabilimenti di macellazione (3 a bollo CE e 4 a capacità limitata annessi ad attività agrituristica), un centro di spedizione, 4 laboratori di sezionamento e 4 salumifici. Sono stati prelevati ed analizzati un totale di 166 campioni, di cui 46 ambientali, 48 da carcasse di suino adulto, 16 da carcasse di suinetto, 24 campioni di carni fresche, 28 preparazioni a base di carne e 4 prodotti a base di carne. Tutti i campioni sono stati sottoposti ad uno screening iniziale mediante Real Time PCR con l'utilizzo di MicroSEQ[®] *Salmonella* spp. detection Kit (Applied biosystems, life technologies) e successivamente con TaqMan[®] Real-time PCR al fine di confermare i risultati ottenuti con il Kit. Sui campioni positivi all'indagine di screening biomolecolare è stato eseguito l'esame colturale mediante la metodica ISO 6579-1:2017. Per ciascun campione positivo sono state eseguite le prove di conferma su base fenotipica. Gli isolati di *Salmonella* spp. sono stati sottoposti a sierotipizzazione secondo lo schema di Kauffman-White e multiplex PCR al fine di valutare la presenza della variante monofasica di *Salmonella tiphimurium*. Relativamente ai risultati, *Salmonella* spp. è stata isolata in 7 campioni su 166 (4,22%). Nell'ambito dei campioni positivi, 2 provenivano da carcasse di suino adulto, 2 da preparazioni a base di carne, 2 da prodotti a base di carne e 1 dall'ambiente di produzione. Tra i sierotipi di *Salmonella* spp. isolati, 1 era *Salmonella tiphimurium*, 3 *Salmonella derby* e 3 *Salmonella tiphimurium* variante monofasica.

C013

Isolamento di *Escherichia coli* ESBL da linfonodi meseraici di cinghiale (*Sus scrofa*)

Silvia Bonardi¹, Simona Longhi¹, Federico Pia¹, Margherita Corradi², Stefano Gilioli², Erika Scaltriti³

¹Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Parma;

²Ente di Gestione per i Parchi e la Biodiversità Emilia Occidentale, Parma;

³Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Sede di Parma, Italia

Lo studio si prefigge lo scopo di valutare l'eventuale ruolo del cinghiale (*Sus scrofa*) quale "biosensore" di microorganismi resistenti agli antimicrobici (AMR) diffusi nell'ambiente nel quale vive. Il cin-

ghiale è l'ungulato più diffuso in Italia, sia in termini distributivi che di consistenza. Il suo areale si estende per circa 190.000 Km², pari al 64% del territorio italiano. La crescita numerica della specie fa sì che numerosi soggetti si trovino frequentemente nei pressi di aree antropiche e di allevamenti di animali da reddito. In questi territori, il cinghiale può facilmente ingerire microrganismi di derivazione umana, ambientale e animale. La colonizzazione intestinale da parte di batteri AMR, spesso derivati da reflui di allevamenti intensivi utilizzati in agricoltura, può comprendere stipti resistenti ai beta-lattamici, tra i quali hanno grande importanza i microrganismi portatori di geni ESBL (Extended-Spectrum Beta-Lactamase) e di carbapenemasi. Per valutare la presenza di *Escherichia coli* portatori di geni ESBL e di carbapenemasi, 108 stipti isolati da linfonodi meseraici di altrettanti cinghiali abbattuti nel 2017-2018 in un piano di controllo in provincia di Parma (Ente Parchi e Biodiversità Emilia-Occidentale) sono stati testati per la sensibilità a cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ) e meropenem (MEM). È stato impiegato il test di Kirby-Bauer facendo riferimento ai breakpoint proposti da CLSI (2017) per indicare la possibile produzione di enzimi ESBL e carbapenemasi: CTX <27 mm, CAZ <22 mm, MEM <24 mm. I ceppi resistenti sono stati saggiati mediante prove di sinergia con acido clavulanico e Polymerase Chain Reaction (PCR) per i geni blaSHV, blaCTX-M, blaTEM, blaAmpC, blaKPC, blaNDM, blaVIM, blaIMP, blaOXA-48, blaSPM, blaBIC, blaSIM, blaDIM, blaGIM, blaAIM. Nessun ceppo di *E. coli* è risultato resistente ai carbapenemi. Uno stipte di *E. coli* (WB-21L) - con aloni di inibizione CTX 9 mm e CAZ 14 mm - è stato sottoposto con esito positivo alle prove di sinergia con acido clavulanico. WB-21L è risultato positivo per il gene blaTEM e negativo per gli altri geni testati mediante PCR. Secondo le nostre conoscenze, questo rappresenta il primo isolamento di uno stipte di *E. coli* ESBL da cinghiali abbattuti in Italia. Il gene plasmidico blaTEM codifica per una β-lattamasi di classe A. La presenza a livello linfonodale di *E. coli* produttore dell'enzima TEM conferma la diffusione al cinghiale di geni ESBL ed è coerente con il fenotipo osservato con il test di sensibilità agli antimicrobici. Il futuro sequenziamento dello stipte WB-21L fornirà indicazioni sulla variante dell'enzima TEM e su eventuali analogie con microrganismi isolati da pazienti umani o da animali da reddito nella stessa area geografica. Le implicazioni sulla salute umana sono evidenti, in quanto prodotti non sottoposti a cottura, quali le salsicce di cinghiale, o la manipolazione delle carni di cinghiale potrebbero diffondere all'uomo batteri commensali provvisti di geni di resistenza facilmente trasmissibili a microrganismi patogeni presenti nel tratto intestinale umano. Un'altra considerazione che si può trarre concerne il ruolo degli animali selvatici quali sensori della contaminazione ambientale da batteri resistenti agli antimicrobici e, in senso lato, da geni portatori di resistenze antimicrobiche.

C014

Prevalenza e tracciabilità di *Salmonella* spp. in cinque salumifici della Sardegna

Francesca Piras, Carlo Spanu, Anna Maria Mocci, Mariella Demontis, Enrico Pietro Luigi De Santis, Christian Scarano
Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari, Sassari, Italia

La Salsiccia Sarda è un insaccato crudo fermentato a breve stagionatura, inserito nell'elenco regionale dei prodotti agroalimentari tradizionali. Nel presente lavoro è stata valutata la prevalenza di *Salmonella* spp. presso 5 salumifici (S1, S2, S3, S4 e S5) nei semilavorati, nel prodotto finito e negli ambienti di lavorazione. Presso ogni

salumificio sono stati effettuati due campionamenti nel corso delle fasi di produzione. Sono stati esaminati complessivamente 270 campioni, di cui: a) carne macinata (50), impasto dopo riposo in cella (50) e salsicce a fine stagionatura (50); b) ambienti di lavorazione (120) da superfici a contatto (SC): tavoli, vagonetti, gancere, tritacarne, impastatrice e insaccatrice (60); da superfici non a contatto (SNC) con le carni: canalette di drenaggio e pool di pavimenti+pareti, presso la cella refrigerata di stoccaggio della materia prima, asciugatura e stagionatura. Sui campioni di materie prime, semilavorati e prodotto finito sono stati determinati l'aw e il pH. Su tutti i campioni è stata eseguita la ricerca di *Salmonella* (ISO 6579-1:2017). Gli isolati sono stati sottoposti ad identificazione fenotipica e sierotipizzazione. I ceppi confermati sono stati sottoposti a elettroforesi in campo pulsatò (PFGE) con l'enzima XbaI (protocollo Salmgene di Peters *et al.*, 2003). Sono stati rilevati i seguenti valori di aw e pH: materia prima $0,97\pm 0,02$ e $5,79\pm 0,16$; semilavorati $0,95\pm 0$ e $5,57\pm 0,28$; prodotto finito $0,91\pm 0,04$ e $5,39\pm 0,26$. *Salmonella* è stata isolata in 3 salumifici (S1, S3 e S4) con una prevalenza complessiva di 16,7% (25/150) nei campioni di alimento e 5,8% (7/120) nei campioni ambientali. La prevalenza è risultata disomogenea nei diversi stabilimenti: S1 ha mostrato la prevalenza più alta (16/54; 29,6%), seguito da S3 (10/54; 18,5%) e S4 (6/54; 11,1%). Nei campioni di alimento la prevalenza più elevata è stata riscontrata nella materia prima (12/50; 24%) e nei semilavorati (12/50; 24%), seguiti dal prodotto finito (1/50; 2%). La prevalenza nei campioni ambientali è risultata pari a 6,6% (4/60) nelle SC e al 5% (3/60) nelle SNC. In particolare, tra i campioni SC *Salmonella* è stata isolata da vagonetti, tavoli e tritacarne, mentre tra i campioni SNC dalla cella di riposo di S1 (canaletta e pool pavimenti+pareti) e dal pool pavimenti+pareti della cella di stagionatura di S3. Presso S3 è stato possibile isolare *Salmonella* da campioni alimentari in tutte le fasi di lavorazione, in un campione di salsiccia a fine stagionatura e da campioni ambientali (SC e SNC). Gli isolati (32, uno per campione positivo) sono risultati appartenere ai seguenti sierotipi: *S. derby* (12/32; 37,5%), *S. typhimurium* e *S. rissen* (entrambi 8/32; 25%), *S. give* e *S. typhimurium* variante monofasica (entrambi 6,25%; 2/32). I sierotipi identificati erano diversi per ogni stabilimento e per ogni giornata di campionamento, tranne *S. derby* che è stata isolata sia presso S3 che S4. Mediante la PFGE sono stati ottenuti 5 diversi pulsotipi. Nessuno dei pulsotipi era comune a più stabilimenti o isolato in giornate di campionamento diverse. Lo studio di tracciabilità condotto mediante PFGE ha permesso di individuare nella materia prima uno dei veicoli di ingresso di *Salmonella* in stabilimento. La rilevazione di *Salmonella* nel prodotto finito evidenzia la capacità del patogeno di superare gli ostacoli presenti nel processo produttivo.

C015

Certificazione qualitativa delle carni di selvaggina cacciata mediante analisi nutrizionali e pH-metro

Roberto Viganò^{1,2}, Eugenio Demartini³, Fiammetta Riccardi⁴, Annafrancesca Corradini³, Martina Besozzi², Paolo Lanfranchi⁵, Pietroluigi Chiappini⁶, Andrea Cottini¹, Anna Gaviglio³

¹Ars. Uni. VCO, Domodossola (VB); ²Studio Associato AlpVet, Busto Arsizio (VA); ³VESPA, Università degli Studi di Milano; ⁴DISAA, Università degli Studi di Milano; ⁵DIMEVET, Università degli Studi di Milano; ⁶Studio Chimico Chiappini, Arona (NO), Italia

La possibilità di immettere sul mercato carni derivanti da ungulati selvatici a vita libera (Reg. CE 852-853/2004) prelevati nell'ambito di piani di gestione venatoria, necessita verifiche approfondite in

tema di qualità nutrizionale, organolettica e sanitaria del prodotto. Scopo del progetto è certificare con metodiche rapide, oggettive e concrete i capi di selvaggina, al fine di qualificare il fornitore (cacciatore), attestare la qualità del prodotto ai fini della commercializzazione, evidenziare possibili cause di rischio sanitario che ne possano pregiudicare il consumo e selezionare i prodotti per destinare quelli di miglior qualità a preparazioni di pregio. Al fine di valutare i parametri nutrizionali ed il profilo acidico tra le diverse specie di ungulati prelevati per identificare differenze tra classi di età e sesso, si è proceduto ad eseguire un campionamento del muscolo *longissimus dorsi* (N=9) di camoscio, capriolo, cervo e cinghiale. Inoltre, al fine di valutare le buone pratiche di gestione delle carcasse, i capi pervenuti ai centri di controllo dei comprensori alpini di caccia (VCO2-Ossola nord e VCO3-Ossola sud, in provincia di Verbania) sono stati oggetto di valutazioni da parte dei tecnici incaricati, registrando tipologia di abbattimento, numero di colpi, dissanguamento e pulizia della carcassa. Si è quindi proceduto ad annotare ora di abbattimento e l'ora di misurazione del pH, effettuata tramite sonda (HD2105.2 Delta OHM®) inserita nel muscolo semimembranosus. I valori di pH misurati 4 ore dopo l'abbattimento sono stati considerati come predittivi della qualità delle carcasse, considerando quelle con $pH > 6,2$ tendenzialmente viranti verso DFD, quelle compresi tra 5,8 e 6,2 verso Intermediate DFD e quelle al di sotto del 5,8 destinate a diventare di buona qualità. Complessivamente sono stati campionati 1056 ungulati (537 camosci, 113 caprioli, 342 cervi e 64 cinghiali) nel triennio 2015/2017. I valori nutrizionali hanno evidenziato un basso contenuto di grassi (<3 g per 100 g), un alto contenuto di proteine e un basso contenuto di grassi saturi (<1,5 g per 100 g). La selvaggina inoltre ha elevate quantità di omega (ω) 3 e di acido linoleico coniugato, e garantisce un corretto rapporto $\omega 6/\omega 3$. Emergono differenze nella concentrazione di grassi nelle classi di età e sesso, in rapporto alla stagione degli amori, la quale comporta perdite di peso dei maschi adulti anche di oltre il 40%. A livello gestionale si è inoltre osservato che un prelievo che comporti agonia dell'animale, un dissanguamento insufficiente, una gestione non corretta della carcassa, nonché condizioni di dimagrimento eccessivo a causa del periodo riproduttivo, siano fattori che influenzano negativamente la velocità di discesa del pH. A livello commerciale è quanto mai necessario procedere ad una certificazione delle carni di selvaggina, in quanto il prodotto non è omogeneo per specie, classe di età, sesso e periodo di prelievo, influenzando a vario titolo i parametri nutrizionali. Inoltre, dato che l'abbattimento e l'eviscerazione viene fatta in campo, occorrono verifiche e criteri di valutazione oggettivi e a basso costo applicabili rapidamente per discriminare, prima dell'invio delle carcasse a locali autorizzati o centri di lavorazione, il prodotto di qualità. Tale aspetto è funzionale anche per la qualifica del fornitore e per migliorare le procedure di prelievo, in ottica di rispetto del benessere animale (abbattimento immediatamente mortale), al fine di garantire una qualità etica, organolettica e sanitaria del prodotto.

C016

Inattivazione non termica di *Listeria* spp. in un insaccato fermentato stagionato: "Il salame Bergamasco"

Erica Tirloni¹, Vanessa Di Pietro², Giuseppe Rizzi³, Francesco Pomilio⁴, Cristian Bernardi¹, Simone Stella¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano; ²Freelance, Bergamo; ³Fratelli Rizzi srl, Ghisalba (BG); ⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italia

Scopo del presente studio è stata la valutazione del potenziale di crescita di *Listeria* spp. inoculata nell'impasto di salame bergamasco all'inizio del processo produttivo. La prova è stata condotta su tre lotti differenti di salame bergamasco della pezzatura di 1 kg (scelta tenendo conto della presenza delle condizioni potenzialmente più favorevoli allo sviluppo di *Listeria* spp.). Rendendosi necessario effettuare il challenge test in azienda, in accordo con le linee guida del laboratorio di riferimento Europeo per *L. monocytogenes*, per l'inoculo sono stati scelti due ceppi di *Listeria innocua* (ATCC 33090 e un ceppo isolato da salami) quali microrganismi "surrogati" non patogeni. L'inoculo dei campioni è avvenuto durante la miscelazione dell'impasto, prima dell'insacco. Sono stati prodotti anche campioni di controllo addizionati con la medesima quantità di soluzione fisiologica, al fine di mimare esattamente l'inoculo batterico. Per evitare cross-contaminazioni, i campioni di controllo sono stati insaccati prima dei rispettivi campioni inoculati. Dopo lo sgocciolamento i salami sono stati sottoposti al classico processo produttivo (asciugatura e stagionatura in 5 fasi a temperatura e umidità specifiche). Il prodotto inoculato, venduto intero con livelli di stagionatura variabili (da 20 a 90 giorni), è stato sottoposto ad analisi per enumerazione di *Listeria* spp. a T0 (giorno dell'inoculo), a T4 (post asciugatura), ed ogni 10 gg in asciugatura (T10, T20, T30, T40, T50, T60, T70, T80 e T90). Poiché è possibile che i salami, in fase di vendita, siano tagliati a metà e confezionati sottovuoto, ad ognuno dei tempi a partire dal T20 un'aliquota di salame è stata confezionata sottovuoto e conservata per 30 giorni a 12°C, al termine dei quali è stata effettuata nuovamente l'enumerazione di *Listeria* spp.. Ad ogni tempo e per ogni tipologia di campioni, su un campione controllo sono state effettuate l'enumerazione della microflora naturale (Conta Batterica Totale, batteri lattici, *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae*) e la determinazione di aw e pH. Il prodotto è risultato essere caratterizzato da una microflora numerosa (~8 Log UFC/g), costituita principalmente da batteri lattici, aggiunti all'impasto all'inizio del processo produttivo. Il pH ha mostrato un decremento nel tempo, atteso per questa tipologia di prodotti, dovuto allo sviluppo dei batteri lattici (5.42-5.55). L'aw ha raggiunto valori inibenti nei confronti dello sviluppo di *Listeria* a circa 30 giorni dalla produzione. Le conte di *Listeria* nei tre lotti di salame Bergamasco hanno evidenziato l'assenza di sviluppo significativo nel prodotto con riduzione delle cariche rispetto a T0 compresa tra -0.59 e -1.04 Log UFC/g. Anche nei campioni sottoposti a confezionamento sottovuoto ed a abuso termico si è evidenziata l'assenza di sviluppo significativo di *Listeria* con ulteriori diminuzioni delle cariche (-0.70/-0.79 Log UFC/g rispetto al T20). Considerando per ogni tempo il lotto meno favorevole (cioè quello con potenziale di crescita maggiore), sia nei prodotti conservati in cella di stagionatura a 14-16°C e ad umidità vicina all'80%, sia nei campioni conservati in abuso termico e sottovuoto non è stata raggiunta la soglia indicata dalle linee guida ANSES (+0.5 Log UFC/g) per lo sviluppo di *Listeria* spp., permettendo di classificare il prodotto nella categoria 1.3 del Reg. 2073/2005 come "Alimento pronto che non costituisce terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*".

C017

Livelli di nitriti e nitrati in alimenti di origine animale e vegetale e stima dell'assunzione giornaliera nei consumatori del centro Italia

Rossana Roila¹, Raffaella Branciarini¹, Rita Staccini², David Ranucci¹, Dino Miraglia¹, Serena Altissimi², Nacer Haouet²

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia;

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia, Italia

Lo studio esamina l'introduzione alimentare da parte di consumatori del centro Italia di nitrati e nitriti. Questi, a causa del loro largo impiego come additivi alimentari e della loro possibile trasformazione in composti probabilmente cancerogeni (Gruppo 2A IARC, International Agency for Research on Cancer) come le nitrosammine, hanno assunto un importante rilievo sanitario. Accanto ai prodotti di origine animale, i vegetali rappresentano una significativa fonte di nitrati presenti naturalmente ad opera di fattori biotici, abiotici e pratiche agricole. La DGA definita dal JECFA è 3,7 mg die-1 per unità di peso corporeo per i nitrati e 0,07 mg die-1 per i nitriti. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare i livelli di nitriti e nitrati nei prodotti a base di carne e nei vegetali e stimare il livello di assunzione giornaliera da parte dei consumatori. Sono stati esaminati durante il periodo 2013-2017 un totale di 2000 campioni di prodotti a base di carne e vegetali. I campioni, previa estrazione, sono stati sottoposti a determinazione dei nitrati e nitriti mediante cromatografia ionica. I risultati hanno evidenziato una ampia variabilità nel contenuto di nitrati con valori compresi tra il limite di rilevanza e 9213 mg/kg (valore medio 2130,96 mg/kg di nitrato nei vegetali e 65,93 mg/kg in prodotti a base di carne) e di nitriti compresi tra il limite di rilevanza e 196 mg/kg (6,45 mg/kg nelle carni). In relazione alle normative vigenti sono risultati superiori ai limiti previsti per nitrati in ambito vegetale il 33% dei campioni di rucola, 21% spinaci a foglia, 19% insalate. Anche altri vegetali, per i quali non è stabilito un limite massimo di legge, hanno presentato valori elevati di nitrati (ravanello 5231 mg/kg). Per quanto riguarda i prodotti a base di carne, il 36% dei campioni di pancetta stagionata, il 33% di bresaola, 3,8% di capocollo risultavano superiori al limite ammissibile di nitrati nei prodotti. Per quanto riguarda il salame e le salsicce secche, il 2,7% e 2,3% presentavano valori di nitrati superiori alla dose ammessa in fase di produzione. Per quanto riguarda i nitriti nei prodotti a base di carne, non sono state rinvenute non conformità per la maggior parte dei prodotti analizzati ad eccezione della bresaola (1 unico campione). In considerazione dei livelli riscontrati, i vegetali rappresentano la maggior fonte di assunzione giornaliera di nitrati a conferma delle indicazioni EFSA che ha recentemente effettuato un riesame degli additivi alimentari ed ha stabilito che l'esposizione dei consumatori ai nitriti e nitrati, utilizzati come additivi alimentari, rientra nei livelli di sicurezza. Tuttavia, se si considerano tutte le fonti alimentari di nitriti e nitrati i livelli DGA (Dose Giornaliera Accettabile) in particolare per i Nitrati potrebbero essere superiori a quelli definiti.

C018

Sequenziamento parziale del gene Citocromo C Ossidasi subunità 1 (COI) per l'identificazione molecolare di *Sarcocystis* spp. nel bovino

Selene Rubiola, Francesco Chiesa, Stefania Zanet, Tiziana Civera

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Italia

La sarcosporidiosi è una parassitosi provocata da protozoi intracellulari dixeni appartenenti al genere *Sarcocystis*; in quanto dixeni, tali protozoi necessitano di due ospiti per il completamento del loro ciclo vitale, un ospite intermedio erbivoro ed un ospite definitivo carnivoro o onnivoro. Il bovino risulta essere l'ospite intermedio di diverse specie di *Sarcocystis*, due delle quali sono considerate zoo-

nosiche; inoltre, nel bovino la sarcosporidiosi è stata associata a lesioni riconducibili a miosite eosinofilia, una miopatia infiammatoria che si manifesta con colorazioni verdastre multifocali dei muscoli affetti che comportano l'esclusione delle carcasse dal consumo umano, con ingenti perdite economiche. Nel corso degli ultimi 3 anni sono state identificate almeno 4 nuove specie di *Sarcocystis* aventi il bovino come ospite intermedio: *S. bovifelis*, *S. rommeli*, *S. bovini* e *S. heydorni*, le quali si sono aggiunte alle già note *S. cruzi*, *S. hominis* e *S. hirsuta*. La mancanza di differenze morfologiche e l'elevata omologia genetica rendono indistinguibili le nuove specie e *S. hominis* tanto alla microscopia quanto ricorrendo all'analisi del gene ribosomiale 18S (18S rRNA); di recente il gene mitocondriale COI (Citocromo Ossidasi subunità 1) ha invece dato prova di essere un ottimo marker genetico per la discriminazione di *Sarcocystis* spp. nei ruminanti. Alla luce di quanto sopra riportato, questo studio si è riproposto di indagare la presenza delle nuove specie sarcosporidiche in assenza di dati relativi al territorio italiano, attraverso l'analisi del gene mitocondriale COI. A questo scopo, 30 campioni di muscolo bovino, precedentemente identificati come *S. hominis* in seguito all'analisi del gene 18S rRNA, sono stati sottoposti ad una PCR con primers disegnati ex novo allo scopo di ottenere l'amplificazione parziale del gene COI. Il sequenziamento parziale (900 bp) del gene COI ne ha comprovato il maggior potere discriminante: l'identità di *S. hominis* è stata infatti confermata in 14 campioni, mentre 18 campioni sono risultati positivi a *S. bovifelis*, con 2 casi di coinfezioni. Alla luce delle scarse possibilità di differenziare le nuove specie entrate a far parte della tassonomia di *Sarcocystis* spp., tanto dal punto di vista morfologico quanto dal punto di vista molecolare, questo studio dimostra la necessità di utilizzare il gene COI per le indagini molecolari volte all'identificazione di specie, necessità comprovata dal potenziale zoonotico di *S. hominis*, la cui discriminazione dalle altre specie aventi il bovino come ospite intermedio risulta essenziale per indagini epidemiologiche mirate alla stima del rischio derivante dal consumo di carne.

C019

Valutazione di due sistemi packaging differenti sul drip loss in carni bovine

Simone Stella¹, Daniela Garavaglia², Giorgia Francini², Valeria Viganò², Cristian Bernardi¹, Patrizia Cattaneo¹, Erica Tirloni¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano; ²Sealed Air Corporation, Passirana di Rho (MI), Italia

Nel presente studio, sono stati utilizzati 25 tagli anatomici "pesce" provenienti da bovini adulti (categoria A, animali maschi non castrati di età compresa tra 12 mesi e meno di 24 mesi) provenienti dallo stesso lotto di macellazione. I tagli, ottenuti subito dopo il sezionamento/disosso manuale, sono stati divisi in due pezzi di circa lo stesso peso (definiti come prossimale, Prox e distale, Dist). Successivamente, i tagli sono stati confezionati sottovuoto con materiali Cryovac®: per ogni taglio, una metà è stata confezionata con sacco termoretraibile (BAG), mentre l'altra è stata confezionata in materiale termoformato (THF). Dopo il confezionamento, i campioni sono stati immediatamente refrigerati e conservati a 2-3°C per 20 giorni. I campioni sono stati sottoposti alle seguenti determinazioni analitiche: analisi microbiologiche (T0 e T20), misurazione del pH (su muscolo e su essudato, T0 e T20), misura del drip loss (T20). I risultati hanno mostrato una quantità significativamente inferiore (P<0.01) di drip loss nei campioni BAG. Inoltre, non

sono state rilevate differenze significative tra parte prossimale e la rispettiva parte distale, anche se una superficie muscolare libera più ampia potrebbe suggerire una perdita più elevata in quella prossimale. L'analisi dell'effetto combinato tra tecnologia di imballaggio e parte del taglio ha confermato la perdita di fluido significativamente più elevata nella serie THF al T20, con un valore leggermente più alto nei campioni prossimali. Il pH muscolare rilevato nei campioni al T0 rientrava nell'intervallo normale per carne bovina adulta (5.7-5.8). Una differenza significativa tra le tecniche di confezionamento è stata rilevata solo al T20 (P<0.01), con valori più alti nei campioni di THF (5.73±0.05 vs 5.78±0.09). Considerando la parte di taglio, è stato rilevato un valore pH più alto nella parte distale dei tagli al T20 (P<0.05). Il pH dell'essudato è risultato generalmente inferiore al pH muscolare, poiché è influenzato dalla crescita graduale della microflora acidificante (principalmente batteri lattici produttori di acido lattico); lo stesso ha mostrato una diminuzione durante lo stoccaggio. Considerando la parte del taglio, è stato rilevato un valore di pH più elevato nella parte prossimale dei tagli al T20 (P<0,01), senza differenze significative tra serie BAG e THC. Per quanto riguarda la carica microbica, la CBT ha mostrato valori a T0 vicini a 4 Log UFC/g raggiungendo valori vicini a 7 log UFC/g, valori attesi dopo 20 giorni di stoccaggio sottovuoto. Tendenze simili sono state osservate per le due serie di campioni. I batteri lattici hanno mostrato una crescita importante da T0 a T20 senza differenze tra le due serie. Le basse cariche di *Enterobacteriaceae* a T0 indicavano una buona condizione igienica dei tagli usati per le prove; si è rilevato poi un aumento graduale a causa della selezione di microrganismi anaerobici psicrotrofi. Cariche leggermente più alte sono stati rilevate nei campioni THF al T20, senza differenze significative. Concludendo, la valutazione dell'effetto delle due tecnologie di confezionamento sul drip loss di tagli bovini conservati per 20 giorni ha mostrato migliori performance del packaging BAG che ha mostrato minor essudato dopo 20 giorni di stoccaggio, con piccole differenze sulle altre caratteristiche della carne.

C020

Caratteristiche microbiologiche, reologiche e fisico-chimiche di carne bovina sottoposta a prolungato periodo di frollatura

Giorgio Smaldone¹, Lucia Vollano¹, Raffaelina Mercogliano¹, Maria Francesca Peruzi¹, Francesca Garofalo², Raffaele Marrone¹

¹Università degli Studi di Napoli "Federico II", Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Napoli; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici (NA), Italia

Il settore delle carni bovine riveste un'importanza economica notevole non solo per la zootecnia italiana ma per tutto il sistema agro alimentare nazionale. In anni recenti si sta affermando il consumo di carni sottoposte ad un prolungato periodo di frollatura, al fine di acquisire caratteristiche reologiche peculiari legate alla maggiore tenerezza del prodotto. Lo scopo di questo studio è stato valutare gli effetti di un lungo periodo di frollatura sulle caratteristiche microbiologiche, reologiche e fisico chimiche di determinati tagli anatomici di bovino. Per la sperimentazione è stata scelta una bovina di razza marchigiana, macellata all'età di 34 mesi e peso vivo di 760 kg. Le mezzene sono state stoccate in cella frigorifera (0±3°C) per cinque giorni, sezionate e poste durante il periodo di frollatura in una cella a ventilazione forzata con un sistema di estrazione automatico impostata ad una tem-

peratura di 0°C e ad una umidità relativa con valori compresi tra 68 e 70%. Le determinazioni analitiche, eseguite presso i laboratori del dipartimento di Medicina Veterinaria e produzioni animali dell'Università di Napoli Federico II, sono state eseguite al T0 (13 g post macellazione), T1 (36), T2 (110), T3 (170) e T4 (290): in particolare sono stati determinati valori di pH ed aw, texture profile analysis (TPA), forza di taglio (WBSF), colore (CIELAB) ed analisi centesimale (AOAC), carica batterica totale (CBT) ed *Enterobacteriaceae*. I risultati dell'analisi della texture (WBSF e TPA) confermano che la carne sottoposta a una maturazione prolungata (290 giorni) mostrava un alto livello di tenerezza. In particolare i parametri peak force (WBSF), durezza e adesività (TPA) hanno evidenziato valori sovrapponibili. L'elasticità, la coesione e la resilienza sono risultati costanti per tutta la maturazione della carne mentre la cohesione, la gommosità e la masticabilità sono risultati costanti fino al T3 per aumentare al T4 attestandosi su valori 3-4 volte superiori a quelli iniziali. Riguardo l'aspetto compositivo si è registrato un aumento del contenuto di proteine, di NaCl e di carboidrati. Comportamento inverso si è registrato per il contenuto in grassi che, a fine frollatura, sono diminuiti, probabilmente a causa di processi litici enzimatici. Per quanto riguarda il colore, la luminosità (L*) è diminuita costantemente durante la maturazione determinando un imbrunimento progressivo. I valori delle coordinate a* e b* sono aumentate fino all'intervallo T2 per poi aver un andamento altalenante negli ultimi intervalli della sperimentazione con spazio del colore CIELAB orientato maggiormente verso aree di colore giallo (b*) e rosso (a*). I valori di pH e aw (6.01 e 0,953) misurati alla fine del processo di frollatura sono risultati sufficienti ad evitare la crescita di microrganismi: in particolare *Enterobacteriaceae* e CBT hanno subito una riduzione. È importante sottolineare la scarsa resa che ha caratterizzato i campioni oggetto del presente studio.

C021

Presenza di residui di cadmio nel muscolo, fegato e rene di *Babalis bubalis* ed evidenze istologiche

Roberta Barrasso, Edmondo Ceci, Giancarlo Bozzo, Giuseppina Tantillo

Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Dipartimento di Medicina Veterinaria, Bari, Italia

Il Reg. CE 1881/2006 e il più recente Reg. CE 488/2014 stabiliscono i tenori massimi di alcuni contaminanti nelle diverse matrici alimentari e prevedono che gli Stati membri della Comunità Europea eseguano monitoraggi continui per alcuni di essi. Pertanto, per la sua elevata tossicità, il rilevamento del Cd è inserito nel Piano Nazionale Residui, che ne prevede la quantificazione nella specie bovina, equina e ovina, assimilando la specie bufalina a quella bovina. Obiettivo del presente studio è fornire indicazioni preliminari circa la presenza di Cd in campioni di fegato, rene e muscolo di 66 bufali divisi in quattro fasce d'età regolarmente macellati, di cui 40 allevati in Campania, nel territorio compreso tra le province di Napoli e Caserta e 26 allevati in Puglia, nella provincia di Bari. Sono state allestite due aliquote per i campioni di rene e fegato: una destinata alle determinazioni chimiche e l'altra destinata alle indagini istologiche; i campioni di muscolo sono stati oggetto esclusivamente d'indagine chimica. In tutti i campioni esaminati è stata riscontrata la presenza di Cd, sia nelle frattaglie, sia nel tessuto muscolare, ma i valori certamente più preoccupanti sono stati evidenziati nei campioni raccolti dai soggetti allevati in Campania. In particolare, in questo

gruppo di animali, i limiti erano superati in 3 campioni di rene, in 3 campioni di fegato e in 5 campioni di muscolo. Viceversa, nel gruppo di animali allevati e macellati nella provincia di Bari è stato evidenziato un livello di contaminazione da Cd di gran lunga inferiore, tanto che nessuno dei 26 campioni aveva superato i limiti soglia imposti dalle normative. È stato possibile evidenziare lesioni tipiche dell'accumulo di Cd nei campioni di rene con concentrazioni del metallo di 1,22, 1,1 e 1,53 mg/kg. È stato osservato un quadro molto compromesso del rene, che coinvolgeva sia i tubuli prossimali, che apparivano dilatati, ripieni di sostanza amorfa e con aree di necrosi localizzate, sia il glomerulo renale, in cui era ben visibile un'alterazione delle cellule epiteliali e dei capillari glomerulari. Viceversa, nei campioni di rene in cui la concentrazione di Cd era compresa tra valori di 0,75 e 0,95 mg/kg, è stato possibile descrivere solo l'alterazione dei tubuli prossimali del rene, che apparivano dilatati e ripieni di materiale proteico. L'esame istologico condotto sul parenchima epatico ha consentito di descrivere unicamente diversi gradi di steatosi, sia nei campioni provenienti da animali allevati in provincia di Bari, sia nel gruppo di animali allevati nelle province di Napoli e Caserta. Pertanto, l'analisi ha dimostrato che la contaminazione del Cd è in stretta relazione all'età degli animali e all'area geografica di provenienza. I livelli di contaminazione di Cd riscontrati nei campioni esaminati fanno ritenere corretta l'indicazione di molti ricercatori di escludere dal consumo umano il rene e il fegato, così come avviene per gli equini, soprattutto per gli animali allevati in aree geografiche ad alto tasso d'inquinamento. Inoltre, considerando che l'allevamento bufalino è in continua crescita grazie alle caratteristiche dietetico-nutrizionali e organolettiche delle sue carni, andrebbe considerata la possibilità di inserire questa specie animale nell'ambito dei regolamenti comunitari come specie a sé stante e non accomunata a quella bovina.

C022

Analisi del microbiota e valutazione del rischio microbiologico in carcasse di polli da carne ottenuti da allevamenti convenzionali ed antibiotic-free

Alessandra De Cesare¹, Antonio Parisi², Alex Lucchi², Loredana Capozzi², Angelica Bianco², Frederique Pasquali², Gerardo Manfreda¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum, Università degli Studi di Bologna; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e Basilicata, Foggia, Italia

L'obiettivo di questo studio era valutare il profilo microbico e il rischio microbiologico associato a carcasse di polli da carne ottenuti da allevamenti convenzionali e senza uso di antibiotici. Il DNA totale ottenuto dalla pelle di collo e petto di ciascuna carcassa è stato sottoposto a sequenziamento del 16SrRNA ed i gruppi microbici identificati sono stati confrontati in termini di abbondance fino a livello di genere. Un totale di 30 carcasse sono state raccolte al macello al termine del tunnel di raffreddamento: 15 provenivano da allevamenti convenzionali e 15 da allevamenti antibiotic-free. Un'aliquota di 10 g di pelle di collo e petto ottenuta da ciascuna carcassa è stata diluita in 40 ml di soluzione fisiologica (0,9% NaCl) ed omogenata in Pulsifier® per 1 minuto. Successivamente tutto il volume di omogenato è stato centrifugato per raccogliere le cellule e procedere quindi all'estrazione del DNA totale mediante PowerFood® MoBio. Il DNA estratto è stato valutato in termini qualitativi e quantitativi ed il 16SrRNA sequenziato mediante MiSeq® (Illumina). A livello di phy-

lum *Bacteroidetes* ed *Actinobacteria* hanno mostrato un valore medio di abundance significativamente maggiore ($p=0.01$; $p=0.02$) nelle carcasse da allevamenti antibiotic-free rispetto alle carcasse da allevamenti convenzionali (21,57 vs 10,95%; 19,29 vs 12,05%) mentre i *Proteobacteria* sono risultati significativamente maggiori ($p=0.01$) nelle carcasse da allevamenti convenzionali (33,19 vs 19,52%). Sempre a livello di phylum, *Firmicutes* non sono risultati significativamente diversi nei due gruppi di carcasse ma hanno mostrato un livello di abundance $\geq 39\%$ in entrambi i gruppi. All'interno del phylum *Bacteroidetes* l'unico genere che è risultato significativamente diverso nei due gruppi di carcasse e con abundance $\geq 1\%$ è stato *Chryseobacterium*, appartenente alla famiglia delle *Flavobacteriaceae* e significativamente maggiore nelle carcasse da allevamenti antibiotic-free (10,07 vs 1,94%). Tra gli *Actinobacteria*, i generi significativamente maggiori nella carcasse da allevamenti antibiotic-free sono risultati *Rothia* (3,08 vs 0,77%) e *Micrococcus* (1,12 vs 0,16%). L'unico genere batterico appartenente al phylum *Proteobacteria* significativamente maggiore nelle carcasse da allevamento convenzionale è risultato *Shewanella* (1,38 vs 0,26%) appartenente alla classe dei *Gammaproteobacteria*. Infine, tra i *Firmicutes*, due generi sono risultati significativamente più alti nelle carcasse da allevamenti convenzionali: *Ureibacillus* (1,45 vs 0,11%) e *Bacillus* (3,28 vs 0,56%). I generi *Campylobacter*, *Clostridium*, ed *Escherichia* non sono risultati significativamente diversi nei due gruppi di carcasse. Tuttavia, *Campylobacter* ed *Escherichia* erano maggiori nelle carcasse da allevamento convenzionale. I generi batterici identificati come significativamente diversi nei due gruppi di carcasse analizzati non includono specie note come patogeni per l'uomo ma appartengono a gruppi di microrganismi degradativi, alcuni dei quali isolati sia nella carne avicola che in altri alimenti, come *Chryseobacterium*, *Bacillus* e *Shewanella*. In relazione ai generi di batteri patogeni, *Campylobacter* ed *Escherichia* erano maggiori nella carcasse da allevamento convenzionale anche se in misura non significativa. Tali evidenze necessitano, tuttavia, di ulteriori conferme mediante un incremento del numero di campioni da analizzare al fine di ridurre l'elevata deviazione standard osservata nell'analisi dei dati e dovuta alla variabilità intrinseca tra carcasse.

C023

Progetto pilota per un sistema di monitoraggio, registrazione e valutazione degli indicatori di benessere in un macello avicolo

Edoardo Fontanella¹, Maurizio Piumatti¹, Mariarosaria Sasso¹, Mauro Noè¹, Francesco Chiesa², Tiziana Civera²

¹ASL CN2, Dipartimento di Scienze Veterinarie; ²Università di Torino, Italia

Tra i compiti dei veterinari ufficiali nei macelli vi è la valutazione dello stato di benessere degli animali, per i polli da carne è previsto uno schema di valutazione basato su 5 indicatori: tasso di mortalità cumulativa giornaliera (TMCG), mortalità all'arrivo (DOA), condizioni generali degli animali (CG), scarto igienico-sanitario (SIS) e lesioni podali (FPL). I controlli si risolvono normalmente in una valutazione puntuale della singola partita, senza prevedere una valutazione organica sull'andamento degli indicatori al livello globale e nelle singole aziende. Il personale veterinario dell'ASL CN2, operante presso un macello avicolo di tipo industriale, ha organizzato da oltre due anni un sistema di monitoraggio e registrazione di queste informazioni; al momento il database sviluppato contiene dati relativi ad oltre 4600 partite provenienti da 237 aziende, principalmente pie-

montesi (72%). L'analisi dei dati ha permesso di valutare i valori medi per ogni singolo indicatore ed il loro andamento stagionale, che per alcuni di essi risulta significativo (DOA, FPL e SIS); in questi casi i valori sono stati corretti in funzione della stagionalità, in modo da poter confrontare partire macellate in differenti periodi dell'anno. Il database permette di visualizzare le performance di ogni singola azienda rispetto ad un indicatore e confrontarle con quelle delle altre aziende. Ogni indicatore ha dei limiti nel rappresentare le reali condizioni di benessere nelle aziende d'origine, per questo motivo è stato proposto un sistema di calcolo che sintetizza in un unico punteggio i valori osservati per 5 indicatori (TMCG, DOA, SIS, FPL ed integrità del piumaggio). Questo valore consente di confrontare, classificare e valutare nel tempo le aziende monitorate. Oltre ad essere utile ai veterinari ufficiali del macello per svolgere i loro compiti di controllo, questo sistema può essere reso disponibile alle altre aree del Servizio Veterinario per pianificare controlli mirati presso le aziende di produzione ritenute più critiche; ogni singola azienda o filiera produttiva, inoltre, può essere interessata a conoscere le proprie performance, come stimolo a migliorare le condizioni di benessere nei propri allevamenti.

C024

Thymus vulgaris: valido sostituto di nitrati e nitriti nei prodotti carnei?

Serena Salvaneschi¹, Marcello Iriti², Lisa Vallone³

¹Macello Salvaneschi, Torrazza Coste (PV); ²Dipartimento DiSAA, Università degli Studi di Milano; ³Dipartimento VESPA, Università degli Studi di Milano, Italia

Sono state saggiate le capacità batteriostatiche e/o battericide di un estratto di olio essenziale di *Thymus vulgaris* nei confronti di *Listeria monocytogenes*. La sperimentazione è stata condotta *in vitro* ed *in vivo*, su prodotti carnei stagionati (salami), utilizzando un ceppo di *Listeria innocua* (wild). La prova *in vitro* è stata condotta utilizzando il metodo di diffusione su agar, strisciando una sospensione di un inoculo di *L. innocua* (torbidità al turbidometro pari a 0.5 McFarland, corrispondente a circa 1-2 x10⁸ UFC/mL) su terreno ALOA e sovrapponendo sullo striscio una quantità pari a 20 L di olio essenziale di *T. vulgaris* (del commercio). Incubazione a 37°C per 48 h. La MIC (minimum inhibitory concentration) dell'olio è stata determinata secondo il metodo delle macrodiluizioni. La prova *in vivo* è stata effettuata testando 2 diverse concentrazioni dell'olio, 0.025% e 0.05%, miscelato all'impasto del salame. Sono stati preparati salami tipo Vecchio Varzi del peso di ca. 100g/cd. I campioni sono stati così allestiti: a) secondo ricetta tradizionale dello stabilimento (con nitrati); b) secondo ricetta tradizionale dello stabilimento (con nitrati) + *L. innocua*; c) con *L. innocua* senza nitrati; d) con *L. innocua* + olio 0.025 %, senza nitrati; e) con *L. innocua* + olio 0.05 %, senza nitrati; f) solo con olio 0.025 %, senza nitrati; g) solo con olio 0.05 %, senza nitrati. Il ceppo di *L. innocua* è stato utilizzato alla concentrazione di 10⁴ UFC/g. I salami, dopo una prima fase di asciugatura, sono stati mantenuti per 20 giorni in un ambiente dedicato ad una temperatura di 15°C con un'umidità pari all'80%. Le analisi sono state condotte a 0, 5, 10, 15 e 20 gg. Il test *in vitro* ha evidenziato la completa inibizione, da parte dell'olio, sulla crescita del microrganismo. Anche nelle prove *in vivo* è stato possibile osservare che, ad entrambe le concentrazioni, l'olio essenziale provoca circa il dimezzamento della quantità del microrganismo inoculato nell'impasto; inoltre, l'effetto battericida dell'olio è sovrapponibile a quello ottenuto nei salami con nitrati e nitriti. In

considerazione dell'attività antifungina mostrata, l'olio essenziale di *T. vulgaris* sembra possedere un promettente potenziale applicativo nel settore salumiero; altri studi sono, comunque, necessari per un ulteriore approfondimento dei risultati ottenuti.

C025

La gestione dei sottoprodotti di origine animale negli allevamenti del territorio del Parco Nazionale del Gran Sasso e monti della Laga: indagine preliminare

Umberto Di Nicola¹, Folco Scappaticci², Luca Pennisi³, Domenico Paludi³, Alberto Vergara³

¹Parco Nazionale del Gran Sasso e Monti della Laga, Assergi (AQ); ²Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Teramo; ³Scuola di Specializzazione in Ispezione degli Alimenti di Origine Animale "G. Tiecco", Università degli Studi di Teramo, Italia

Questo lavoro è stato svolto per valutare come le aziende zootecniche presenti nel territorio del Parco Nazionale del Gran Sasso e Monti della Laga (PNGSL) smaltiscono i SOA non destinati al consumo umano, in attuazione della normativa vigente (Reg. 1069/2009/CE). Sono stati sottoposti agli OSA delle aziende zootecniche presenti nel territorio del Parco questionari finalizzati alla raccolta delle seguenti informazioni: specie e numero di capi allevati, tipo di rimonta, tipo di produzione, tipo di allevamento, numero medio di capi deceduti ogni anno con particolare riferimento alle perdite per l'anno 2017, modalità con cui essi sono stati smaltiti, procedure messe in atto per altri sottoprodotti non destinati al consumo umano (lana e prodotti lattiero caseari). Nel periodo febbraio-marzo 2018 sono stati raccolti n. 38 questionari relativi ad altrettante aziende zootecniche su un totale di circa 350 presenti sul territorio del Parco. I risultati hanno evidenziato la presenza di allevamenti prevalentemente stanziali, transumanti verticali durante i mesi estivi. La specie più allevata è risultata quella ovina, seguita da bovini e caprini; in ultimo gli equidi. In queste aziende, nel corso dell'anno 2017, sono deceduti in totale n. 95 capi bovini (su n. 1.299 allevati), n. 454 ovini (su n. 8.596), n. 29 caprini (su n. 313) e n. 26 equini (su n. 227). Per quanto riguarda il bestiame deceduto in stalla, il 93,9 % è stato smaltito mediante interrimento, in quanto consentito in deroga alla normativa; il 6,01% è stato impropriamente utilizzato per l'alimentazione dei cani da lavoro dell'azienda. Per il bestiame deceduto al pascolo, il 43,2% è stato smaltito mediante interrimento, il 5,4% è stato utilizzato per l'alimentazione dei cani da lavoro, mentre il restante 51,4% è stato lasciato direttamente sul pascolo. Il bestiame deceduto, lasciato incustodito sulle aree di pascolo, è oggetto di consumo da parte degli stessi cani da guardiania, oltre che della fauna selvatica necrofaga presente sul territorio, costituendo situazioni di incontro critiche. La figura del Medico Veterinario Ispettore all'interno di aree protette ed oasi naturalistiche è quindi fondamentale per l'attuazione di un corretto smaltimento dei sottoprodotti non destinati al consumo umano, soprattutto quelli appartenenti alla categoria 1 del regolamento CE n.1069/2009 per: il raggiungimento degli obiettivi di prevenzione della diffusione delle TSE fissati dalla legislazione comunitaria, evitare il diffondersi di malattie infettive ed infestive a tutela e protezione della fauna selvatica, evitare la possibilità di diffusione di zoonosi, preservare la bioconservazione delle specie protette, come ad esempio il lupo, impedendo momenti di contatto con il cane, alla base dei fenomeni di ibridazione che ne stanno rendendo difficile la conservazione, implementare strategie alternative di smaltimento di carcasse compatibili con le realtà

locali e gli obiettivi di sanità e sicurezza prefissati. Soluzioni di smaltimento conformi alla legge anche in territori come i pascoli estivi dove logisticamente diventa difficile attuare la normativa sono attualmente in fase di studio e sperimentazione, e prevedono ad esempio la costruzione di piattaforme di alimentazione per uccelli necrofagi, ben isolate dalla superficie di pascolo, sopraelevate rispetto al terreno e recintate per evitare l'ingresso di predatori e mammiferi domestici.

Latte e prodotti lattiero-caseari

C026

***Arcobacter* spp. nel latte bovino: patogeno emergente a potenziale rischio zoonosico**

Marta Caruso¹, Laura Latorre¹, Gianfranco Santagada¹, Rosa Fraccalvieri¹, Laura Maria Difato¹, Angela Miccolupo¹, Loredana Capozzi¹, Elisabetta Bonerba², Anna Mottola², Antonio Parisi¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia;

²Dipartimento di Medicina Veterinaria, UNIBA, Bari, Italia

Scopo: Il genere *Arcobacter* è stato riconosciuto quale agente patogeno per l'uomo e per gli animali; in particolare le specie *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii* sono state associate a diversi casi di malattie gastrointestinali nell'uomo. *Arcobacter* spp. è stato isolato dalle feci di numerose specie di animali d'allevamento e rilevato come contaminante di diversi alimenti, incluso il latte. Lo scopo dello studio è stato valutare la prevalenza di *Arcobacter* spp. nel latte di massa bovino proveniente da 396 aziende della Regione Puglia ed eseguire la caratterizzazione genetica dei ceppi isolati. I campioni di latte sono stati seminati in *Arcobacter* broth supplementato con Cefoperazone, Amphotericina B, Teicoplanina e incubati a 30°C per 48 h in microaerofilia. Ciascuna brodocoltura è stata sottoposta ad uno screening molecolare mediante Real Time PCR genere specifica; le brodoculture positive, previamente filtrate, sono state seminate su piastre di Agar Sangue, MCCD e Karmali e incubate a 30°C per 3-4 giorni in microaerofilia. Almeno 5 colonie sospette sono state sottoposte a test di identificazione presuntiva; le colonie costituite da batteri Gram negativi, di forma a spirale, positive ai test ossidasi e catalasi, sono state considerate *Arcobacter* spp. e sottoposte a identificazione di specie mediante amplificazione e sequenziamento del gene *atpA* e a successiva caratterizzazione genetica mediante Multi-Locus Sequence Typing (MLST). Lo screening molecolare ha rivelato presenza di *Arcobacter* spp. in 64 (16%) dei 396 campioni di latte mentre l'esame colturale ne ha consentito l'isolamento soltanto da 20 (5%). L'unica specie identificata dai 20 campioni positivi è stata *A. butzleri*; l'analisi MLST dei 20 ceppi ha identificato 81 alleli e 16 ST; 13 (81%) dei 16 ST erano rappresentati da un singolo isolato e solo ST66, ST420 e ST633 erano condivisi da più di un isolato; inoltre 15 (19%) degli 81 alleli e 14 (87%) dei 16 ST non erano mai stati precedentemente identificati. Altri autori avevano indicato *A. butzleri* come la specie maggiormente diffusa sia nel latte e derivati che negli stabilimenti lattiero-caseari, ipotizzando che ciò dipendesse dalla sua peculiare capacità di resistere alla sanificazione e di persistere e moltiplicarsi in diversi substrati e in diverse condizioni ambientali. L'analisi genetica ha dimostrato un elevato livello di variabilità di *A. butzleri*, già descritta da altri autori, e confermato l'elevato potere discriminante della MLST, caratteristica che rende tale metodo idoneo per indagini epidemiologiche. I risultati hanno confermato l'importanza del latte crudo quale possibile fonte di *Arcobacter* spp. per l'uomo. Il consumo di latte trattato termicamente e l'uso del latte pastorizzato per la produzione di prodotti lattiero-caseari dovrebbe rappresentare una misura efficace per prevenire il rischio per la salute umana. Bisogna comunque considerare i rischi sanitari derivanti dal diffuso consumo di prodotti lattiero-caseari a base di latte crudo per alcuni dei quali, come ad esempio mozzarella e ricotta, è già stato dimostrato che

Arcobacter spp. è in grado di resistere alle temperature utilizzate durante la produzione. Non va inoltre sottovalutato il potenziale pericolo derivante dalla contaminazione crociata dei cibi non sottoposti a cottura prima del consumo.

C027

Whole genome sequencing per la tipizzazione e caratterizzazione di ceppi di *Escherichia coli* produttori di Shiga-Tossina (STEC) sierotipo O157 e O26 isolati in allevamenti di bovini da latte

Frederique Pasquali¹, Federica Palma¹, Marcello Trevisani², Alex Lucchi¹, Alessandra De Cesare¹, Gerardo Manfreda¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna; ²Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna, Italia

I sierotipi O157 e O26 di *Escherichia coli* produttori di Shiga-Tossina (STEC) sono tra i più frequentemente isolati in casi umani di colite emorragica e sindrome emolitico-uremica. Il principale serbatoio di infezione da STEC rimane legato all'allevamento dei bovini da latte e prodotti derivati. Lo scopo del presente studio ha riguardato la caratterizzazione del viruloma e del resistoma così come la tipizzazione di ceppi isolati in allevamenti di bovini da latte in Italia. Al fine di una più ampia comparazione, nello studio sono stati inclusi anche genomi pubblici di ceppi O157 e O26 isolati in bovini da latte o nell'uomo in diverse parti del Mondo. I genomi sono stati sequenziati su piattaforma MiSeq. Una volta valutata la qualità, le reads sono state assemblate mediante pipeline INNUCa. L'identificazione delle SNPs è stata eseguita mediante mappaggio delle reads sul genoma di riferimento *Escherichia coli* O157:H7 str. Sakai (EHEC) (Ref Seq NC_002695). I determinanti genetici sono stati ricercati sui genomi assemblati utilizzando la pipeline abricate contenente due database rispettivamente di circa 2606 geni di virulenza e 2112 geni di antibiotico resistenza. Le reads di ogni isolato sono state assemblate in genomi contenenti un numero di contigs variabili da 86 a 296 con N50 compreso tra 72929 e 241370. Il coverage è risultato incluso tra 35 e 79X. Lo studio del viruloma ha portato all'identificazione, nei genomi testati, di un totale di 190 determinanti genetici di virulenza. I genomi O157 possiedono alcuni geni *chu*, omologhi ai geni *shu* di *Shigella dysenteriae*, mentre nessuno di questi geni è stato trovato nei genomi O26. I geni *chu* sono associati alla possibilità di utilizzare il gruppo eme dell'emoglobina come fonte di ferro. Tale abilità è stata descritta come una strategia efficace per l'acquisizione di ferro durante la progressione dell'infezione. Inoltre, i genomi O157 presentano un numero maggiore di geni *espR*, *espX* e *espY*. Tutti e tre i geni *esp* sono coinvolti nel sistema di secrezione di tipo III associato alla sopravvivenza del batterio all'interno della cellula eucariota ospite. Al contrario i genomi O26 presentano i geni *flhA* e *flhC* assenti nei genomi O157 e responsabili della biosintesi del flagello importante nei primi stadi di adesione ed invasione. Inoltre, i genomi O26 presentano otto geni *ybt* (*ybtA*, *ybtE*, *ybtP*, *ybtQ*, *ybtS*, *ybtT*, *ybtU* e *ybtX*) assenti nei genomi di O157. I geni *ybt* sono associati all'acquisizione di ferro mediata da siderofori e sono stati originariamente identificati nell'Isola di Iper-Patogenicità di *Yersinia pestis*. Lo studio del resistoma ha mostrato la presenza di un numero limitato di geni di antibiotico resistenza. In particolare, solo in due genomi O26, tra quelli sequenziati nel presente studio, è stato possibile identificare i geni *strA* e *tet(C)* associati alla resistenza a streptomicina e tetraciclina. Lo studio del viruloma di genomi di *E. coli* STEC O157 e O26

ha permesso di identificare i gruppi di geni *chu* e *ybt* associati ad un diverso meccanismo di acquisizione del ferro nei due sierotipi, un aspetto metabolico rilevante per la patogenicità di *E. coli*. Se confermato su un più ampio numero di genomi pubblici, i geni identificati potrebbero essere utilizzati tra i potenziali biomarker per la differenziazione di O157 e O26.

C028

Effetto di propoli prodotta in Toscana sullo sviluppo di *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* in latte e ricotta

Francesca Pedonese, Giada Verani, Beatrice Torracca, Barbara Turchi, Antonio Felicioli, Roberta Nuvoloni

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa, Italia

La propoli è una sostanza resinosa raccolta e trasformata dalle api a partire da diverse specie botaniche. Impiegata nella medicina tradizionale fin dall'antichità, le sono riconosciute, tra le altre, proprietà antibatteriche, immunomodulanti, gastroprotettive, epatoprotettive, antidiabetiche, che la rendono adatta ad un utilizzo come componente di alimenti funzionali, oltre che proprietà utili dal punto di vista tecnologico, come quella antiossidante. Benché l'attività antimicrobica sia stata oggetto di numerosi studi *in vitro*, risultano scarse le ricerche mirate ad evidenziare tale effetto direttamente nell'alimento, ed in particolare nei prodotti lattiero-caseari. In questo lavoro è stata saggiata l'attività antimicrobica di un estratto idroalcolico di propoli prodotta in Toscana (Val di Cecina) in Skim milk sterile, latte vaccino e di capra pastorizzati ed in ricotta vaccina e di capra. Sulla propoli in esame è stata effettuata la caratterizzazione pollinica e sono stati preliminarmente determinati i valori di minima concentrazione inibente (MIC) e battericida (MBC) in Tryptone Soy Broth su patogeni e alteranti Gram + e Gram - (ceppi ATCC, tranne *Bacillus cereus*, di origine alimentare). Le prove in latte sono state eseguite sui microrganismi individuati come i più sensibili (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *B. cereus*), che sono stati inoculati singolarmente ed incubati a 37°C per 24 ore; per le prove su ricotta, condotte in abuso termico a 8,5°C per la durata della shelf-life dei prodotti, è stato inoculato all'1% un pool dei microrganismi prescelti, previa standardizzazione spettrofotometrica degli inoculi. L'estratto idroalcolico di propoli è stato utilizzato al 2 ed al 5% contro controllo non inoculato ed etanolo al 70% alle stesse concentrazioni. La composizione pollinica della propoli ha evidenziato la presenza di polline di specie botaniche tipiche dell'area geografica di origine, con prevalenza del polline di castagno. La MIC della propoli per i Gram + in esame è risultata compresa tra 0,89 e 1,78 mg/ml, la MBC tra 3,55 e 7,11 mg/ml. Per le prove in latte, le due concentrazioni di propoli hanno dato luogo a decrementi significativi rispetto al controllo per tutti e tre i Gram + in Skim milk, lo stesso è avvenuto per il latte vaccino per la propoli al 5%, ma solo per *S. aureus* per quella al 2%. In latte di capra la propoli al 5% ha dato luogo a decrementi medi rispetto al controllo sempre superiori ad un logaritmo. Nella ricotta vaccina con propoli al 5% *L. monocytogenes* ha mostrato cariche costantemente e progressivamente inferiori rispetto al controllo durante lo stoccaggio, con significatività statistica a partire dal 14 giorno; risultati simili si sono ottenuti con la ricotta caprina. Le cariche batteriche ottenute con la propoli al 5% sono sempre state inferiori di almeno un logaritmo a quelle ottenute con il solo etanolo al 5%. Non si sono avuti invece effetti significativi per *S. aureus* e *B. cereus* in presenza di propoli alla temperatura di stoccaggio considerata. L'interessante

attività antimicrobica dimostrata, in particolare nei confronti di *L. monocytogenes*, unita alle proprietà benefiche della propoli, potrebbe essere positivamente sfruttata nell'elaborazione di prodotti lattiero-caseari ready-to-eat conservati a temperatura di refrigerazione, come la ricotta, anche elaborando formulazioni non alcoliche, adatte a tutte le fasce di consumatori.

C029

Identificazione dei fattori di virulenza e antibiotico resistenza in stipti di *Arcobacter butzleri* isolati da latte bovino mediante Whole Genome Sequencing

Antonio Parisi¹, Loredana Capozzi¹, Angelica Bianco¹, Marta Caruso¹, Laura Latorre¹, Antonella Costa², Anna Giannico¹, Donato Ridolfi¹, Amelia Bulzacchelli², Gianfranco Santagada¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia;

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo, Italia

Arcobacter butzleri è un batterio aerobio patogeno responsabile di diarrea e setticemia nell'uomo. *A. butzleri* è la specie più importante e prevalente del genere *Arcobacter*, e rappresenta un importante agente patogeno zoonotico. Campioni ambientali, in particolar modo l'acqua non trattata, sembrano essere i principali serbatoi dell'*A. butzleri*. Nei paesi industrializzati, il batterio è frequentemente isolato da prodotti alimentari di origine animale, compreso latte e derivati e carni di varie specie animali, suggerendo che la contaminazione umana non avviene solo per consumo di acqua contaminata, ma anche di prodotti alimentari di origine animale crudi o poco cotti. Malgrado siano stati condotti diversi studi sulla diffusione dell'*A. butzleri* negli alimenti, ad oggi pochi dati sono disponibili circa le caratteristiche genetiche ed i profili di virulenza degli isolati animali ed umani. Recentemente, la disponibilità di numerosi tools bioinformatici ha reso attuale l'utilizzo dei dati di Whole Genome Sequencing (WGS) per l'analisi in silico dei microrganismi patogeni. Lo scopo di questo studio era la caratterizzazione dei profili di virulenza e di antibiotico resistenza mediante WGS di 10 ceppi di *A. butzleri* isolati da campioni di latte. Un totale di 10 stipti di *A. butzleri* isolati da campioni di latte di massa bovino, precedentemente identificati mediante sequenza parziale del gene *atpA*, sono stati sottoposti a sequenziamento dell'intero genoma. In breve, il DNA purificato di ciascun isolato è stato utilizzato per la preparazione di librerie mediante Nextera XT DNA sample preparation kit (Illumina). Le librerie indexate sono state sequenziate mediante 2x250 paired-end MiSeq Reagent Kits v2 usando la piattaforma Miseq (Illumina). Le sequenze ottenute sono state sottoposte a filtering mediante Trimmomatic ed assembleate utilizzando SPAdes 3.11.1. La sequenza del genoma di ciascun ceppo è stata sottomessa in pubmlst.org/arcobacter al fine di predire il Sequence Type (ST), in "Virulence Factor Database" (VFDB) ed in "The Comprehensive Antibiotic Resistance Database" (CARD) con lo scopo di predire rispettivamente i fattori di virulenza e i geni di antibiotico-resistenza. La predizione dei fattori di virulenza è stata integrata effettuando un allineamento in BLASTn che ha permesso una ricerca mirata dei 9 principali fattori di virulenza di *A. butzleri*: *cadF*, *ciaB*, *cj1349*, *irgA*, *hecA*, *hecB*, *mviN*, *pldA*, *tlyA*. Dei 10 ceppi analizzati: 3 appartenevano al ST66, 2 al ST420 ed i restanti 5 ceppi ai STs: ST627, ST629, ST630, ST633 e ST637. VFDB ha permesso di predire ~210 differenti fattori di virulenza per ciascun isolato. Usando la funzione BLASTn è emerso che il 100% dei ceppi possedeva i fattori di virulenza *cadF*, *pldA*, *ciaB*, *cj1349*, *mviN* e *tlyA*; il 50% *irgA*; il 10% *hecB*; nessun ceppo presentava la sequenza codificante il gene *hecA*. La predizione del resistoma ha evidenziato che il 100% dei ceppi isolati possedeva geni correlati alla resistenza ai

Fluorochinoloni e Tetracicline; il 90% a Rifampicina e Cefalosporine. Lo studio ha fornito interessanti dati sulle caratteristiche di virulenza e sulla dotazione di geni correlati all'antimicrobico resistenza di stipti di *A. butzleri* isolati dal latte. La determinazione del ST ha aggiunto inoltre informazioni relative alla variabilità genetica di questo microrganismo. Il presente lavoro propone un innovativo approccio metodologico che consente una rapida e completa caratterizzazione di questi microrganismi patogeni.

C030

Studio dei livelli di interferenti endocrini in latte crudo prelevato in azienda: valutazione del rischio

Serena Santonicola¹, Maria Carmela Ferrante¹, Nicoletta Murru¹, Genni di Leo², Aniello Anastasio¹, Raffaella Mercogliano¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli; ²Veterinario Libero Professionista, Avellino, Italia

La dieta rappresenta la principale via d'esposizione umana al bisfenolo A (BPA). Le proprietà estrogeniche, il diffuso uso industriale e gli effetti tossici a basso dosaggio del BPA hanno sollevato preoccupazioni sui potenziali effetti sulla salute umana. Pertanto, l'EFSA ha raccomandato un'assunzione giornaliera provvisoria (t-TDI) di 4 g/kg di peso corporeo/giorno, mentre il Regolamento UE n. 2018/213 ha fissato un limite di migrazione specifico (LMS) per il BPA di 0,05 mg/kg nei prodotti alimentari derivante da materiali plastici destinati a venire a contatto con gli alimenti. Considerando che il latte e i prodotti lattiero caseari sono ampiamente consumati da bambini e adulti, la contaminazione da BPA rappresenta una fonte di preoccupazione per la salute del consumatore. Lo scopo della ricerca è stato quello di indagare i livelli di contaminazione del latte vaccino crudo prelevato in due allevamenti (A e B) situati in Campania. I campioni di latte (n.11 dall'azienda A e n.11 dall'azienda B), raccolti settimanalmente dalla vasca di raffreddamento, sono stati analizzati mediante cromatografia liquida. I risultati preliminari hanno mostrato la presenza del BPA nel latte crudo di entrambe le aziende, con valori compresi tra non rilevabile a 2,77 g/L, inferiori al LMS. L'esposizione del consumatore, calcolata considerando tre possibili scenari (il caso migliore, il peggiore e il caso medio), si è attestata a livelli inferiori alla t-TDI. Il BPA potrebbe essere presente nel latte non solo a causa della contaminazione ambientale, ma anche come conseguenza della migrazione a partire da materiali plastici componenti delle mungitrici automatiche, durante la mungitura, o presenti nelle vasche di raffreddamento del latte crudo in fase di stoccaggio. Nonostante i ridotti livelli di esposizione riscontrati attraverso il consumo del latte, è opportuno sottolineare che il BPA anche a basse dosi può indurre effetti avversi sulla salute dell'uomo. Nuovi approcci, metodi e piani di controllo dovrebbero essere applicati per il monitoraggio della contaminazione chimica del latte e dei derivati del latte.

C031

Conservabilità della ricotta salata e affumicata confezionata in atmosfera modificata

Christian Scarano¹, Carlo Spanu¹, Anna Maria Mocchi¹, Francesca Piras¹, Mariella Demontis¹, Gavino Murittu¹, Giuliano Pinna², Angela Santoru², Enrico Pietro Luigi De Santis¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari, Sassari, ²F.I.I. Pinna Industria Casearia S.p.A., Thiesi (SS), Italia

È stato sviluppato un prodotto innovativo che propone una rielaborazione della ricotta "mustia", prodotto tradizionale del caseificio ovino della Sardegna, con la realizzazione di forme di ridotte dimensioni (300 g) confezionate in atmosfera modificata. Il processo di produzione, rispetto a quello tradizionale, è caratterizzato da minore manipolazione e durata dell'esposizione del prodotto. L'affumicatura può influenzare oltre che le caratteristiche sensoriali anche la shelf-life del prodotto, grazie alle proprietà antiossidanti e batteriostatiche. È stato pertanto condotto uno storage test, con lo scopo di valutare il profilo microbiologico e le caratteristiche chimico-fisiche e sensoriali. Lo studio è stato condotto su 126 campioni, provenienti da tre lotti di produzione di un caseificio industriale della Sardegna. Le ricotte venivano sottoposte a tre differenti tempi di affumicatura a freddo (25-30°C), rispettivamente 1, 2 e 3 ore. I campioni venivano analizzati il giorno del confezionamento (T0) e dopo 15 (T15), 30 (T30) e 45 (T45) giorni di conservazione refrigerata (4°C) e di abuso termico (7°C). Per ciascuna data, lotto, tempo di affumicatura e temperatura di conservazione venivano analizzati campioni in duplicato. Sono stati determinati la carica batterica totale, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *Pseudomonas* spp, lievii e muffe, pH, aW, la composizione chimica % (umidità, grasso, proteine, sale) e dei gas nello spazio di testa (N₂, CO₂ e O₂). L'analisi sensoriale è stata inoltre condotta mediante test triangolare per determinare, per ciascuno dei tre livelli di affumicatura, l'eventuale presenza di differenze nel corso della conservazione. Non sono state osservate differenze significative per il pH (6,06±0,22), aW (0,982±0,05), umidità (74,67±1,81), grasso (10,25±1,35), proteine (10,92±0,46) e sale (1,70±0,42) per i diversi livelli di affumicatura, temperatura di conservazione e data di campionamento. È stata rilevata la seguente composizione del gas nello spazio di testa: a T0, N₂ 89,2±2,27%, CO₂ 9,67±2,28%, O₂ 1,20±0,28%; a T45, N₂ 93,19±1,63%, CO₂ 6,67±1,67%, O₂ 0,11±0,17%. La carica batterica totale nel corso della conservazione presentava livelli iniziali di 3,88±0,49 log ufc/g (T0); al termine (T45), risultava di 3,11±0,88 a 4°C e 3,38±1,16 a 7°C. Le *Enterobacteriaceae* erano rilevabili in un campione del prodotto conservato a 4°C, in numero pari a 2,77 ufc/g (T45); in campioni conservati a 7°C a livelli rispettivamente di 2,0 ufc/g in un campione (T30) e pari a 2,87±0,04 ufc/g in due campioni (T45). *B. cereus* è stato rilevato in 6 campioni (4,76%), a livelli di 2,32±0,37 log ufc/g. *L. monocytogenes*, *Pseudomonas* spp e *E. coli* erano sempre sotto il limite di determinazione delle rispettive metodiche. Il profilo microbiologico per tutta la durata della conservazione è accettabile con risultati che, per le caratteristiche di composizione (aW, pH) e microbiologiche del prodotto, sono preliminari alla conduzione di challenge test con i microrganismi patogeni, necessari per dare evidenza della sicurezza per tutta la durata della conservazione.

C032

Applicazione del metodo Micro Biological Survey (MBS) per la determinazione della carica batterica nel latte crudo bovino

Alessandra Cornacchia¹, Maria Antonietta Saletti¹, Violeta Di Marzio¹, Romolo Salini¹, Cristina Marfoglia¹, Elga Tieri¹, Nicola D'Alterio¹, Nicla Marri², Francesca Losito³, Alyxandra Arienzo⁴, Lorenza Murgia⁴, Giovanni Antonini^{3,4}, Simonetta Amatiste², Loris Leboffe^{2,4}, Francesco Pomilio¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G. Caporale, Teramo, ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleantri, Roma; ³Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi, Consorzio

Interuniversitario, Roma; ⁴Dipartimento di Scienze, Università degli Studi Roma Tre, Roma, Italia

Lo scopo di questo studio è stato valutare la performance del metodo di analisi "Micro Biological Survey (MBS)" nella determinazione della carica batterica nel latte crudo bovino. Il test MBS è un metodo colorimetrico recentemente sviluppato e brevettato dall'Università degli Studi Roma Tre. La valutazione del metodo MBS è stata effettuata confrontandolo con il metodo della conta in piastra a 30°C e la citometria di flusso. Lo sviluppo ed il perfezionamento di metodi di analisi alternativi, quale il test MBS, più rapidi e facili da eseguire potrebbe essere un valido supporto alle aziende del settore agroalimentare poiché permetterebbe di ridurre i lunghi tempi di analisi, i costi elevati e la necessità di operatori esperti che caratterizzano metodi come la conta in piastra o tecnologie più avanzate come la citometria di flusso. Sono stati eseguiti tredici set di esperimenti indipendenti analizzando complessivamente 104 campioni di latte crudo bovino con i metodi selezionati. La conta in piastra a 30°C e il test MBS sono stati effettuati presso il reparto di Igiene dell'Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" (IZSAM) a Teramo. Le aliquote del campione sono state stabilizzate usando bastoncini di sodio azide e inviate alla sede di Lanciano dell'IZSAM per eseguire la determinazione della carica batterica con citometria di flusso mediante Bactoscan FC. I risultati espressi dalla citometria di flusso (IBC/ml) sono stati convertiti in UFC/ml, utilizzando la curva di conversione tra IBC (Individual Bacteria Count) e UFC; allo stesso tempo i risultati ottenuti mediante MBS test sono stati convertiti in UFC/ml mediante un'equazione che mette in relazione il tempo di viraggio dei reagenti del kit MBS ed il numero di batteri presenti nel campione. Il test non parametrico di Friedman è stato applicato per verificare le differenze tra i risultati analitici dei tre metodi. Sono stati effettuati inoltre confronti a coppie a posteriori, mediante il test di Nemenyi, con correzione di Bonferroni. I risultati ottenuti utilizzando il metodo MBS sono confrontabili con quelli ottenuti con il metodo della conta in piastra a 30°C. Allo stesso tempo, l'analisi statistica ha evidenziato differenze statisticamente significative tra questi due metodi e la citometria di flusso, che potrebbero essere dovute a diverse ragioni. Alcuni test sono stati infatti effettuati in giorni diversi, con diverse condizioni di conservazione. Sono stati inoltre utilizzati bastoncini di sodio azide per la conservazione del campione nel trasporto alla sede periferica dell'IZSAM. Il confronto qui riportato ha dimostrato che il metodo MBS fornisce risultati concordanti ai risultati ottenuti mediante il metodo della conta in piastra a 30°C e la citometria di flusso. Il metodo MBS potrebbe quindi diventare un valido supporto per il controllo del latte crudo nelle aziende di produzione; le sue caratteristiche di riproducibilità, accuratezza, economicità e praticità lo rendono particolarmente adatto per autocontrollo di piccole e medie aziende o stabilimenti per la produzione di latte o latticini, in quanto garantisce il monitoraggio sia della qualità che della sicurezza lungo l'intera catena alimentare. Le differenze riportate per alcuni campioni evidenziano la necessità di testare più campioni nella stessa unità di laboratorio e alle stesse condizioni analitiche per ridurre il più possibile gli errori ed ottenere dati più robusti.

C033

Presenza di *Arcobacter* spp. in latte crudo da distributori automatici in Piemonte

Amaranta Traversa¹, Silvia Gallina¹, Francesca Martucci¹, Cvetelina Boteva¹, Elisa Baioni², Cristiana Maurella², Elisa Benvenuto¹, Irene Ferrero¹, Elena Ferrero¹,

Federica Giacometti³, Silvia Piva³, Andrea Serraino³, Lucia Decastelli¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, SC Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Torino; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, SS Biostatistica, Epidemiologia e Analisi del Rischio, Torino; ³Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Ozzano dell'Emilia (BO), Italia

Il genere *Arcobacter*, famiglia *Campylobacteraceae*, comprende 26 specie ubiquitarie, che possono albergare nell'intestino di animali asintomatici. Nell'uomo *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii* sono considerati enteropatogeni zoonosici emergenti in grado di causare gastroenteriti e infezioni extra-intestinali. Nei paesi industrializzati, la principale via di trasmissione all'uomo è il consumo di alimenti crudi, poco trasformati e acqua contaminati. Nella filiera latte *Arcobacter* spp. è stato isolato dalle feci degli animali, filtri per il latte, latte di massa, formaggi e ambienti di trasformazione (1). Lo scopo è stato valutare la presenza di *Arcobacter* spp. in campioni di latte crudo, prelevati in Piemonte presso distributori automatici, mediante metodo culturale e successiva identificazione dei ceppi con tecniche di spettrometria di massa (MALDI-TOF MS) e biomolecolari. Per la ricerca di *Arcobacter* spp. è stato impiegato il metodo culturale descritto in bibliografia (1) modificato nella fase di isolamento con l'utilizzo in parallelo del terreno selettivo descritto addizionato con sangue laccato e di *Campylobacter* Blood-Free Agar Base (CCDA-Oxoid). Le colonie sospette, rispettivamente piccole trasparenti e piatte e traslucide sui due terreni, sono state osservate al microscopio dopo colorazione di Gram e identificate con tecnica MALDI-TOF MS (Vitek MS-bioMerieux). Per valutare il limite di rilevabilità del metodo, un'aliquota di latte di massa è stata positivamente con livelli scalari rispettivamente di 10⁴ UFC/mL, 10³ UFC/mL, 10² UFC/mL, 10 UFC/mL di *A. butzleri* DSM 8739TM. La ricerca di *Arcobacter* spp., eseguita in doppio per ogni campione positivamente, è risultata positiva fino al livello 10² UFC/mL in entrambe le rilevazioni. I ceppi isolati, estratti con InstaGene Matrix (Bio-Rad), sono stati sottoposti a multiplex PCR end-point (2) per l'identificazione di *A. butzleri* e *A. cryaerophilus*. I ceppi di riferimento *A. butzleri* DSM 8739TM e *A. cryaerophilus* DSM 7289TM sono stati utilizzati come controlli positivi. Da novembre 2017 a maggio 2018 sono stati testati 32 campioni di latte crudo. Otto campioni (25%) sono risultati positivi per *Arcobacter* spp.; tutti i ceppi isolati sono stati identificati come *A. butzleri* con tecnica MALDI-TOF e confermati tali mediante multiplex PCR end-point. I risultati ottenuti sono sovrapponibili ad altri dati disponibili in Italia (1): la filiera latte rappresenta una buona nicchia ecologica per *A. butzleri*, specie in grado di sopravvivere nei sistemi di mungitura e nei tank di raccolta grazie alla capacità di alcuni ceppi di formare biofilm o di essere incorporati in biofilm pre-esistenti. Il riscontro di questo patogeno emergente avvalorava l'obbligo di consumo previa bollitura del latte crudo come previsto dalla normativa vigente (3). Infine, il riscontro di *Arcobacter* nella filiera latte suggerisce di ampliare le indagini analitiche anche ad altri microrganismi emergenti, ad oggi non inclusi tra i criteri di sicurezza.

Lavoro finanziato dal Ministero della Salute, Progetto IZS PLV 05/14 RC

Bibliografia

- Giacometti F. et al. (2015). *Arcobacter butzleri*, *A. cryaerophilus*, and *A. skirrowii* circulation in a dairy farm and sources of milk contamination. AEM, 81(15), 5055-5063.
- Doudidah L. et al. (2010). Identification of five human and mammal associated *Arcobacter* species by a novel multiplex-PCR assay. J Microbiol Methods, 80(3), 281-286.
- Decreto Ministeriale 12 dicembre 2012.

Non solo carne, pesce e latte

C034

Monitoraggio preliminare sulla presenza di composti perfluorurati in uova prodotte in Italia in differenti sistemi di allevamento

Elisa Ghelli¹, Maria Teresa Tondo¹, Elisa Zironi¹, Giampiero Pagliuca¹, Federico Sirri², Teresa Gazzotti¹

¹Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Ozzano dell'Emilia (BO); ²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Ozzano dell'Emilia (BO), Italia

Le sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) comprendono un vasto gruppo di molecole di sintesi largamente impiegate a livello industriale e domestico per molteplici applicazioni. A seguito della forte energia di legame tra fluoro-carbonio, manifestano una forte resistenza alla degradazione termica, all'idrolisi, alla fotolisi e alla biodegradazione. Da contro, questa stabilità è causa della loro persistenza ambientale. Nel 2012 l'EFSA ha pubblicato un report sulla presenza di PFAS negli alimenti evidenziando effetti nocivi sulla salute. Sulla base di queste evidenze ha raccomandato dosi giornaliere tollerabili dei due PFAS più noti, l'acido perfluorooctanoico (PFOA) e l'acido perfluorooctansulfonico (PFOS), rispettivamente di 1500 ng/kg e 150 ng/kg di peso corporeo/giorno, ed ha inoltre incentivato la comunità scientifica a raccogliere più dati sui livelli di PFAS negli alimenti. Lo scopo di questo lavoro è stato quindi di monitorare per la prima volta la presenza di PFAS in uova di gallina prodotte nel nord Italia, campionando uova provenienti da diverse aree geografiche (Emilia-Romagna e Veneto) e da diversi sistemi di allevamento (biologico, a terra, in aviario, in gabbia) al fine di valutare se queste variabili potessero in qualche modo influenzare l'accumulo di PFAS nelle uova. In questo studio sono stati analizzati i PFAS più diffusi: l'acido perfluorononanoico (PFNA), il PFOA, l'acido perfluoroesano sulfonico (PFHxS) e il PFOS attraverso l'uso della cromatografia liquida ad ultra prestazione accoppiata alla spettrometria di massa (UPLC-MS/MS). Sono state analizzate 132 uova, suddivise in undici gruppi in base alla provenienza geografica e al sistema di allevamento. Per ogni gruppo sono stati analizzati 4 campioni, costituiti ognuno dal raggruppamento di 3 tuorli. Le uova sono state bollite dopodiché il tuorlo, sul quale è stata effettuata l'estrazione, è stato separato dall'albume. La preparazione dei campioni è stata effettuata seguendo una metodica già descritta in letteratura che prevede un'estrazione con solvente organico seguita da un passaggio di purificazione tramite cartucce SPE. La quantificazione di ogni analita è stata effettuata mediante diluizione isotopica; inoltre per evitare la contaminazione da parte del sistema LC è stata utilizzata una precolonna specifica per PFAS per tutte le analisi. I risultati ottenuti concordano con i dati riportati nei pochi lavori disponibili in letteratura sulle uova di gallina commerciali; per la quasi totalità dei campioni, i livelli di ogni analita sono risultati essere sotto il limite di quantificazione (LOQ) pari a 0,25 ppb, ad eccezione di due campioni (appartenenti allo stesso gruppo di uova da allevamento a terra, provenienti dalla provincia di Pavia) che hanno mostrato livelli quantificabili rispettivamente di PFOS e PFHxS, entrambi di 0,4 ppb. Nel 15,9 % dei campioni sono stati trovati livelli di PFOA, PFNA e PFHxS superiori al limite di determinazione (LOD) di 0,1 ppb, ma comunque non quantificabili. La contaminazione di PFAS rilevata è risultata essere quindi molto

bassa e uniformemente distribuita tra le varie tipologie di campioni. Non è stata evidenziata alcuna differenza significativa nella contaminazione per quanto riguarda la provenienza delle uova e il sistema di allevamento.

C035

Rilevazione di Epatite A in insalata mista ready to eat mediante Propidium Monoazide Real Time Polymerase Chain Reaction

Valentina Terio, Angela Di Pinto, Alessandra Savarino, Giuseppina Tantillo

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia

Gli agenti virali rappresentano un'importante causa di malattie a trasmissione alimentare nell'Unione Europea (UE). Nell'ambito degli alimenti pronti al consumo, sottoposti a processi tecnologici di minima entità, confezionati in vaschette o buste termo sigillate, e quindi caratterizzati da tecnologie di produzione particolarmente blande finalizzate al mantenimento dei parametri organolettici, gli alimenti vegetali di IV gamma ready to eat (RTE) sono frequentemente associati a malattie a trasmissione alimentare ad eziologia virale. Il Reg CE 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari, basa il giudizio di idoneità microbiologica dei prodotti ortofrutticoli di IV gamma esclusivamente su parametri batteriologici (*Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*). L'assenza di criteri virologici specifici è essenzialmente imputabile alla difficoltosa valutazione del rischio da agenti virali, giustificata dalla limitata disponibilità di metodi analitici sufficientemente affidabili e validati. In relazione al ruolo sanitario rilevante assunto dagli agenti virali e all'incremento del numero di segnalazioni di malattie associate al consumo di vegetali di IV gamma, intendimento del presente lavoro è rilevare la presenza del virus dell'Epatite A (HAV) in insalata mista RTE con Real Time PCR in accordo con la ISO/TS 15216-2:2013 e verificare la potenziale infettività mediante l'utilizzo del Propidium MonoAzide (PMA) Real time PCR, al fine di acquisire dati epidemiologici necessari ad una corretta valutazione e gestione del rischio. Nell'ambito dell'indagine attuata mediante Real Time PCR è stata rilevata la presenza di RNA virale di HAV in 6/20 dei campioni analizzati, confermando l'ampia diffusione del virus anche in alimenti di origine vegetale. Inoltre, l'impiego di PMA Real time PCR ha consentito di rilevare particelle virali vive e vitali in 1/6 campioni risultati Real Time PCR HAV-positivi. I risultati ottenuti nel presente studio, sia pure preliminare, evidenziano e confermano l'elevato rischio di ordine virologico associato al consumo di alimenti di origine vegetale RTE, sottolineando la necessità di implementare specifiche ed efficaci misure di controllo anche degli agenti virali nell'ambito delle procedure aziendali di gestione del rischio, basate sul sistema HACCP, lungo l'intero ciclo di produzione, dalla coltivazione, alla raccolta, al trasporto, alla manipolazione, al confezionamento e alla distribuzione, alla luce delle Linee guida per il controllo ufficiale ai sensi dei Regolamenti CE 882/2004 e 854/2004. L'aggiornamento della legislazione europea in materia di sicurezza degli alimenti, mediante l'introduzione di criteri virologici specifici, subordinata all'affinamento e alla disponibilità di metodologie analitiche innovative e affidabili, risulta quindi imprescindibile al fine di attuare una efficace valutazione del rischio igienico-sanitario legato al consumo di prodotti ortofrutticoli di IV gamma.

C036

Lombrichi edibili? Dati preliminari da un punto di vista di sicurezza alimentare

Cecilia Conti¹, Marta Castrica², Claudia Balzaretto²,
Doriana Tedesco¹

¹Department of Environmental Science and Policy (ESP), Università degli Studi di Milano; ²Department of Health, Animal Science and Food Safety (VESPA), Università degli Studi di Milano, Italia

La popolazione mondiale e la domanda alimentare, in particolare quella di proteine di origine animale, sono in aumento. È quindi necessario trovare delle soluzioni sostenibili per ottimizzare l'utilizzo delle risorse ed assicurare sufficienti fonti alimentari. Allo stesso tempo, la società produce grandi quantità di rifiuti alimentari. In questo scenario sono indispensabili sistemi sostenibili per la gestione degli scarti alimentari possibilmente aderenti al concetto di economia circolare. Gli scarti derivanti dal settore ortofrutticolo possono rappresentare un valido substrato di crescita per i lombrichi contribuendo all'efficienza di bioconversione degli scarti alimentari. I lombrichi, caratterizzati da una elevata percentuale di proteine e minerali, sono una fonte alimentare in alcuni Paesi del mondo tra i quali Cina e Filippine e sono inseriti nel dizionario "Food Science & Technology". I lombrichi cresciuti su scarti ortofrutticoli (SOF) possono rappresentare un'integrazione alimentare alle fonti proteiche di origine animale. L'approccio biotecnologico della trasformazione dei SOF in nuove fonti alimentari (lombrichi), soddisfa i criteri di sostenibilità ambientale in un modello di economia circolare. Lo studio si prefigge l'obiettivo di caratterizzare il profilo microbiologico dei SOF (i) utilizzati come substrato di crescita; dei lombrichi freschi (ii) e della farina di lombrichi (iii) derivante da due processi di trasformazione tecnologica (liofilizzazione ed essiccazione). Inoltre è stata valutata l'efficienza di tali tecnologie nel ridurre la contaminazione microbica. In particolare, sono stati valutati i seguenti parametri microbiologici: ricerca di *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, conta di microrganismi mesofili aerobi, conta di *Enterobacteriaceae*, conta di *E. coli* e coliformi totali, conta di Stafilococchi coagulasi positivi, conta di *Bacillus cereus* presunto, conta di anaerobi solfito riduttori. I risultati delle analisi microbiologiche hanno evidenziato l'assenza di *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* nel substrato di crescita, nei lombrichi freschi e nella farina derivata. Al fine di condurre una valutazione del profilo microbiologico dei lombrichi freschi è stato effettuato un paragone con il limite fornito dal Centro Interdipartimentale di Ricerca e Documentazione sulla Sicurezza Alimentare (CeIRSA) per la categoria carni macinate. Dall'analisi comparativa è emerso che tutti i campioni analizzati sono rientrati nei limiti di accettabilità, ad eccezione dei coliformi totali e *B. cereus* presunto, per i quali il CeIRSA non ha stabilito limiti nella categoria utilizzata per la comparazione dei nostri risultati. In particolare, *E. coli* e Stafilococchi coagulasi positivi sono risultati al di sotto del limite di rilevabilità (1 log UFC/g), mentre i valori di microrganismi mesofili aerobi, *Enterobacteriaceae* e anaerobi solfito riduttori, all'interno dei limiti di accettabilità. I processi tecnologici valutati per la produzione della farina, hanno evidenziato una riduzione della carica microbica, confermando l'importanza dei trattamenti nel migliorare il profilo microbiologico. In conclusione, i lombrichi edibili rappresentano una valida e sicura opzione alimentare, un innovativo approccio biotecnologico di riutilizzo dei SOF migliorando la sostenibilità ambientale e alimentare.

C037

Gestione della sicurezza alimentare 4.0

Luca Pizzi¹, Luca Cianti², Lara Tinacci¹, Maurizio Garniga³,
Alessandra Guidi¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie Università di Pisa; ²Azienda USL Centro Toscana, Firenze; ³Safeaty srl, Pisa, Italia

Il mondo delle imprese sta attraversando quella che viene definita la "quarta rivoluzione industriale" o "Smart Manufacturing" che prevede un'applicazione estesa delle nuove tecnologie e l'utilizzo di impianti e sistemi digitalizzati e connessi in rete per il miglioramento dei modelli e degli output produttivi. Il nuovo modello di sviluppo è ispirato al concetto di fabbrica "intelligente" che basa sulla tecnologia, su dispositivi che comunicano tra di loro e sullo scambio attivo di dati l'organizzazione e la gestione dei processi produttivi. Questo processo ha coinvolto anche il settore alimentare e, secondo i dati del Ministero dello Sviluppo Economico, che ha lanciato il Piano Nazionale Industria (PNI) 4.0 2017-2020 con cui intende favorire gli investimenti in tecnologie digitali e innovazione, il 60% delle aziende ha investito in innovazione. Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di applicare la tecnologia informatica a supporto dei sistemi aziendali di gestione della sicurezza alimentare. Lo studio ha previsto un'analisi del Sistema di Autocontrollo aziendale in piccole e medie imprese di produzione e distribuzione alimentare al fine di rilevarne le modalità di implementazione e applicazione. Parallelamente è stato sviluppato un modello di gestione informatizzato, "Safeaty Control Management" (SCM), basato sui programmi di prerequisiti (PRP) in accordo con la comunicazione della Commissione europea (2016/C 278/01) relativa all'armonizzazione dei sistemi di gestione per la sicurezza alimentare e con la norma ISO 22000:2005. La piattaforma SCM, è realizzata su architettura multi layer client-server, in particolare: - lo strato di backend è sviluppato con tecnologia Java 2 Enterprise Edition (J2EE) e si occupa della logica di business e persistenza dati su database Postgres. - lo strato di frontend è sviluppato su framework AngularJS, e si occupa prettamente della logica inerente la raccolta e visualizzazione dati, oltre che la gestione degli aspetti di Graphical User Interface (GUI). Il SCM è un sistema informatizzato ed interattivo che permette di creare e amministrare tutte le informazioni necessarie allo sviluppo e alla gestione del sistema di sicurezza alimentare. La piattaforma è scalabile ed attraverso l'utilizzo del cloud computing permette la connessione di numerosi e differenti devices con accessi e informazioni personalizzate in funzione delle diverse mansioni degli operatori del settore alimentare. Inoltre, è stata realizzata una scheda "cruscotto" che permette la gestione centralizzata di più realtà produttive. Lo sviluppo e la realizzazione del SCM rientrano appieno negli obiettivi del PNI 4.0 quale strumento di miglioramento per il sistema aziendale di gestione della sicurezza alimentare, andando a superare alcune delle problematiche rilevate dall'analisi iniziale sui sistemi attualmente in uso quali: diffinitività, scarsa personalizzazione, complessità di utilizzo. Il SCM rappresenta uno strumento di dematerializzazione e di customizzazione aziendale dei piani di sicurezza alimentare e favorisce la gestione e l'archiviazione dei dati. Inoltre, la possibilità di condividere in modo controllato i dati e le non conformità aziendali all'interno di un sistema definito di utilizzatori, favorisce la partecipazione aziendale al sistema di sicurezza alimentare.

C038

Ultrananocluster di argento per applicazioni in campo biomedico, veterinario e alimentare

Luca Scotti¹, Domenico Paludi², Antonio Aceto¹, Anna Rita Festino², Tonino Bucciarelli¹, Maurizio Ronci¹

¹DSMOB Università di Chieti-Pescara; ²Facoltà di Medicina Veterinaria Università di Teramo, Italia

Il nuovo campo interdisciplinare della nanoscienza è cresciuto rapidamente e le nanoparticelle hanno attirato molta attenzione sulle loro particolari proprietà chimiche e biologiche. In particolare, le nanoparticelle di argento e oro possono essere preparate in presenza di agenti stabilizzanti come il citrato di sodio, da applicare agli antimicrobici, ai biosensori, ai materiali compositi e ai componenti elettronici. In Europa, il Reg (UE) 2283/2015 è stato aggiornato introducendo le nanoparticelle, approvandone il loro uso nel settore alimentare in piccole concentrazioni. Alcune nanoparticelle cariche (+/-) aumentano la rigidità, la resistenza e la duttilità del materiale tradizionale, o, ad esempio, quelle lamellari, migliorano la barriera ai gas. Altre ancora migliorano il ruolo più attivo del packaging nella conservazione del cibo. È risaputo che la tecnologia di confezionamento è costituita da materiali con caratteristiche diverse, come ad esempio l'eliminazione dell'ossigeno, l'eliminazione degli etileni e l'effetto antimicrobico. La funzione principale dell'imballaggio è quella di conservare il cibo e di mantenerne le caratteristiche durante tutta la durata di conservazione. Uno studio che mostra l'uso delle nanotecnologie negli imballaggi alimentari è stato realizzato dal Consorzio per la promozione della cultura di Proplast, un trattato del Progetto Nanocoat gestito dal Consorzio Innova FVG. Nel campo del packaging attivo, un ruolo importante potrebbero avere le nanoparticelle di argento, con le loro ben note proprietà antimicrobiche. Un nanocomposito cellulosico contenente nanoparticelle di argento di diverse dimensioni è già stato sviluppato con proprietà antimicrobiche. L'uso della nanotecnologia nel campo della sicurezza alimentare è una delle frontiere che riguardano l'azienda. La ricerca e lo sviluppo di nuovi nanomateriali potrebbero essere applicati in diversi campi per migliorare le proprietà organolettiche del cibo durante lo stoccaggio, con benefici per l'industria alimentare e i consumatori. Abbiamo recentemente sintetizzato nuove nanoparticelle con caratteristiche diverse rispetto a quelle commerciali. I nostri nano cluster d'argento (Silver Ultra Nanocluster, SUNc) con dimensioni medie molto piccole (<1nm) sono puri e, tenuti al buio a 5° C in atmosfera inerte, rimangono stabili per almeno 8 mesi. Abbiamo valutato la loro azione antibatterica *in vitro* contro *P. aeruginosa* e altri microrganismi. I SUNc erano particolarmente attivi contro le cellule planctoniche *P. aeruginosa* e *B. cepacia* (MIC mediana: 1,06 e 2,12 g / ml, rispettivamente) ad effetto rapido, battericida e concentrazione-dipendente. Gli SUNc hanno dimostrato di essere particolarmente efficaci contro il biofilm di *P. aeruginosa* e *S. aureus*, causando una riduzione della vitalità che va dal 50% (1xMIC) a >99,9% (4xMIC). La microscopia elettronica ha dimostrato che SUNc destruttura la matrice extracellulare del biofilm di *P. aeruginosa* e si accumula sulla superficie cellulare causandone la morte creando un danno alla membrana. È interessante notare che, come primo controllo preclinico, SUNc, diversamente dalla tobramicina antibiotica, risultava non tossico rispetto alle larve di *G. mellonella*. Questi risultati, tutti insieme, sostengono fortemente l'idea che il nostro SUNc potrebbe risultare di grande interesse in diverse aree: ambiente, alimentazione, salute umana, medicina veterinaria. Silver Ultra Nanocluster sono prodotti nel nostro laboratorio e sono pronte per essere testate

C039

Valutazione del tenore di Acrilamide in campioni di alimenti prelevati in Puglia negli anni 2014-17

Leonardo Carosielli¹, Francesco Lo Greco², Egidio Leonetti², Antonio Armentano², Maria C. Amenduni², Marco Barisonzo², Giovanni Corte², Nunzia Diaferia², Nicola Intini², Mariangela Palma², Nicola Sabino², Paolo Salvatori², Tiziana Santoro², Francesca Ferrieri²

¹ASL FG Servizio Veterinario Area "B"; ²Polo Specializzazione Alimenti, DAP Bari, ARPA Puglia, Italia

L'Acrilamide è un composto organico a basso peso molecolare, altamente solubile in acqua, che si forma a partire dall' asparagina e zuccheri naturalmente presenti in determinati alimenti preparati a temperature normalmente superiori a 120°C e con bassa umidità. Risulta essere una molecola nefrotossica, genotossica e cancerogena, prodotto indesiderato delle reazioni di Maillard in cibi ricchi di carboidrati cotti al forno o fritti, costituiti da materie prime che contengono i suoi precursori, quali cereali, patate e caffè. Le Raccomandazioni della Commissione Europea 2013/647 e 2007/331, nonché il piano integrato in materia di sicurezza alimentare della Puglia (PRIC), prevedevano, in accordo ai numerosi studi da parte dell' European Food Safety Authority (EFSA), un monitoraggio negli Stati membri dell'UE sui prodotti alimentari di cui è noto l'elevato tenore di acrilamide quali biscotti, pane tostato, caffè, patatine fritte, ecc... Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare il livello di Acrilamide nei prodotti alimentari maggiormente esposti ad una presenza di questa molecola, campionati in Puglia dal 2014 al 2017. Il metodo per la determinazione dell'Acrilamide è un metodo interno validato, che prevede una semplice e rapida estrazione in fase acquosa e filtrazione e le analisi strumentali condotte su un cromatografo liquido abbinato ad uno spettrometro di massa ad alta risoluzione. Negli anni dal 2014 al 2017 sono stati analizzati, presso i laboratori del Polo Alimenti dell'Arpa Puglia, un totale di 101 campioni (16 di caffè tostato, 28 prodotti da forno, 29 patate fritte, 28 alimenti per l'infanzia) prelevati dal personale Asl preposto al campionamento ufficiale. Il 57% dei campioni analizzati risultano avere un valore di concentrazione di Acrilamide inferiore al limite di quantificazione del metodo. Le matrici con più alto contenuto di Acrilamide risultano essere il caffè tostato e le patate fritte. I valori di concentrazione di Acrilamide riscontrati nei campioni analizzati tra il 2015-17 sono risultati tutti inferiori ai livelli di riferimento riportati nel regolamento 2158/17 in vigore dall'11 dicembre 2017 e in applicazione dall'11 aprile 2018 (Regolamento che istituisce misure di attenuazione e livelli di riferimento per la riduzione della presenza di Acrilamide negli alimenti). Nel 2014, su due campioni, cereali per colazione e caffè torrefatto) sono stati riscontrati delle concentrazioni di Acrilamide superiori ai valori indicativi riportati nella Raccomandazione della Commissione Europea 2013/647. Nonostante il regolamento 2158/17 trasferisca una significativa responsabilità agli operatori del settore, è necessario, pur sempre, effettuare piani di monitoraggio anche in esercizi e locali di preparazione al dettaglio per verificare se siano applicate le misure di attenuazione riportati nell'allegato I del Regolamento 2158/17 e se vengano applicate le buone pratiche di lavorazione (GMP) ai fini di raggiungere livelli più bassi che si possano ragionevolmente ottenere, rispetto all'allegato V dello stesso.

C040

Food Safety Modernization Act USA: l'Audit Regolatorio come strumento di verifica della conformità all'esportazione del Made in Italy

Claudio Gallottini¹, Franco Rapetti², Andrea Gentili¹, Enrica Alberti¹,

Dina Sanna², Noemi Trombetti³, Leonardo Natale⁴,
Giovanni La Rosa¹, Anna Mulargia¹, Ferruccio Marelllo¹

¹Ita Corporation, Miami FL, USA; ²Euroservizi Impresa Srl, Torgiano (PG) Italia; ³Center of International Services Research & Development Srls, Roma Italia; ⁴FACT Incorporation, Englewood (NJ) USA

Il Food Safety Modernization Act (FSMA), è la nuova normativa quadro di sicurezza alimentare, firmata da B. Obama nel Settembre 2011, creata dalla Food and Drug Administration (FDA). Dopo quattro anni dalla sua pubblicazione, nel settembre 2015 sono stati pubblicati i primi regolamenti attuativi che ad oggi sono sette e vengono chiamati "Seven pillars". Due di questi regolamenti introducono un nuovo concetto di Audit che in un caso, nel Foreign Supplier verification program Rule, dovrà essere attuato dal nuovo importatore statunitense chiamato Importer FSVP sui fornitori esteri; in un altro caso, dovrà essere utilizzato da enti di certificazione accreditati presso FDA per certificare le aziende rispettose di tutti i nuovi requisiti introdotti dal FSMA e quindi poter entrare in USA senza fare dogana. Il nostro lavoro presenta la prima check list ufficialmente creata ad oggi per lo svolgimento di "Audit Regulatori" sul titolo 21 del Code of Federal Regulation, contenente i nuovi requisiti del FSMA. Abbiamo sviluppato una check list di conformità ai nuovi requisiti applicabili alle industrie alimentari di trasformazione, sottostanti la giurisdizione della US FDA, sulle quali si applica il FSMA ed in particolare il regolamento Preventive Controls for Human Food. La check list ha circa 100 requisiti (variabili in base al settore specifico dell'industria), seguendo la struttura del Curriculum Standardizzato realizzato per FDA dalla Food Safety Preventive Controls Alliance e lo schema delle nuove Good

Manufacturing Practices (GMP) pubblicate insieme al nuovo regolamento. Abbiamo quindi valutato lo stato di conformità delle industrie effettuando da Agosto 2017 ad oggi 35 Audit Regulatori. La check list valuta la conformità documentale e la corretta implementazione in campo dei requisiti nei seguenti ambiti: GMP, Food Safety Plan (FSP), Recall Plan, Food Defense, altre norme applicabili al settore aziendale. Si è riscontrato quanto segue: il 100% delle aziende auditate presenta uno standard volontario implementato (ISO, BRC ed IFS). Il 95% di queste non ha compreso le nuove GMP USA confondendole con i prerequisiti degli standard volontari in uso. Il 40% delle aziende auditate ha redatto un FSP completo; di questa percentuale, nel 100% dei casi, si sono rilevati errori nella metodica di valutazione ed identificazione dei pericoli significativi per la sicurezza alimentare. Nel 100% dei casi auditati il Recall Plan è stato redatto secondo le norme in uso in Europa ma non rispettando quelle derivate dal FSMA. Nell'80% dei casi la Food Defence (FD) implementata non ha seguito lo standard FSMA, ma quello degli schemi volontari. Nel 100% dei casi nessuna Azienda sanitaria locale ha mostrato interesse al nuovo quadro normativo USA o ha mai partecipato in corso di Audit Regulatorio. Appare evidente come il nostro sistema agroalimentare abbia sottovalutato i contenuti dei nuovi requisiti introdotti dal FSMA. La FDA ha creato percorsi di formazione obbligatori ancora poco sfruttati, software gratuiti per la progettazione del FSP e della FD, ancora poco utilizzati o noti. I moduli predisposti da FDA per i Recall non sono mai utilizzati per non conoscenza e/o scarsa comprensione della lingua inglese. Si auspica un maggior impegno delle nostre realtà produttive, volto alla formazione del proprio personale ed alla ricerca delle fonti di informazione sui nuovi requisiti sui portali ufficiali della FDA e non sul passaparola.

SESSIONE POSTER

Prodotti della pesca

P001

Ricerca e caratterizzazione biomolecolare di microrganismi patogeni emergenti del genere *Arcobacter* spp. in molluschi bivalvi vivi allevati e commercializzati nella Regione Sardegna

Tiziana Tedde¹, Laura Mara¹, Maria Teresa Uda¹, Antonio Fadda¹, Ivana Maida², Aldo Marongiu¹, Sebastiano Virgilio¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Struttura Complessa Sicurezza Alimentare, Sassari; ²Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Scienze Mediche Chirurgiche e Sperimentali, Sassari, Italia

Lo scopo del lavoro è stato quello di verificare l'eventuale presenza di microrganismi del genere *Arcobacter* in molluschi bivalvi vivi allevati e commercializzati nella regione Sardegna. Nel periodo compreso tra aprile 2016 e ottobre 2017 sono stati sottoposti ad accertamenti analitici per la ricerca di microrganismi del genere *Arcobacter* n. 86 campioni di molluschi bivalvi vivi, di cui 59 appartenenti alla specie *Mytilus galloprovincialis* (per un totale di 590 esemplari), 17 alla specie *Crassostrea gigas* (per un totale di 85 esemplari) e 10 alla specie *Tapes decussatus* (per un totale di 200 esemplari). In particolare, n. 72 campioni provenivano da 13 diverse zone di produzione, ubicate lungo l'intero perimetro costiero della Sardegna e 14 dal circuito commerciale regionale. Sulla totalità dei campioni prelevati è stata effettuata la ricerca di microrganismi del genere *Arcobacter* e relative specie potenzialmente patogene (*A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii*) mediante l'utilizzo di metodi colturali e biomolecolari (Multiplex PCR, e 16S rDNA-RFLP). Nel complesso, sono risultati positivi per *Arcobacter* sp., sia con il metodo colturale che mediante conferma biomolecolare, n. 27 campioni di molluschi bivalvi vivi (31,4%), di cui 6/17 (35,3%) della specie *Crassostrea gigas*, 17/59 (28,8%) della specie *Mytilus galloprovincialis* e 4/10 (40%) della specie *Tapes decussatus*. La ricerca delle diverse specie del genere *Arcobacter* ha evidenziato i seguenti risultati: *Arcobacter butzleri*: 33,3%, *Arcobacter cryaerophilus*: 40,7%, *Arcobacter skirrowii*: 40,7%. Il presente lavoro è uno dei pochi che registra la presenza di *A. skirrowii* in campioni di molluschi bivalvi vivi allevati in Italia. Il riscontro di prevalenze elevate di specie potenzialmente patogene di *Arcobacter* nell'ambito della filiera della molluschicoltura suggerisce l'opportunità che la comunità scientifica incrementi l'attenzione nei confronti di tale microrganismo così da inserirlo stabilmente tra i patogeni emergenti nell'ambito della sicurezza alimentare.

P002

Verifica del contenuto di acidi grassi polinsaturi nel pesce fresco e post-abbattimento termico

Serena Meister¹, Claudio Baiocchi², Marzia Pezzolato¹, Valentina Cambiotti¹, Luca Magnani³, Paolo Ubaldi³, Angelo Ferrari¹, Elena Bozzetta¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino; ²Università degli Studi di Torino, Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Torino; ³Esselunga, Biandrate (NO), Italia

Scopo del lavoro è stata la comparazione del contenuto degli acidi grassi omega-3 acido eicosapentaenoico (EPA) e acido docosaenoico (DHA) in campioni di pesce freschi e post-abbattimento termico al fine della bonifica da parassiti. Tramite un fornitore di fiducia sono stati reperiti 16 tranci di tonno a pinne gialle e 12 filetti di sgombro freschi pescati nel periodo primaverile. Da ogni campione sono state ricavate 2 porzioni di muscolo di 10 g, suddividendo quindi i campioni di ciascuna specie in 2 gruppi: controlli negativi (freschi mai sottoposti a temperature inferiori a 0°C) e controlli positivi (campioni da congelare a -20°C/24 ore). I controlli negativi sono stati immersi nel solvente d'estrazione acetone-tri-clorometano 50:50 e conservati a -20°C fino all'analisi; i campioni trattati sono stati posti in un congelatore da laboratorio sottoposto a controllo costante della temperatura, in seguito posti a 4 +/- 2°C fino a completo scongelamento, dopodiché immersi in acetone-tri-clorometano 50:50 e conservati a -20°C fino all'analisi. I campioni sono stati omogeneizzati, al fine di ottimizzare l'estrazione. Il liquido surnatante limpido è stato iniettato tal quale (1.0 L) in un sistema gascromatografico (6890 N Agilent) interfacciato con un analizzatore di massa a singolo quadrupolo (5973 N Inert MSD, Agilent). L'iniezione è avvenuta in splitless con l'iniettore a 280°C (splitless time di 1 minuto e successivo splitflow a 50l/minuto). La separazione è stata operata su una colonna Zorbax (Phenomenex, ZB-5HT) di lunghezza 30 m, diametro 0.25 m, spessore del film 0.10 m. Il gradiente di temperatura utilizzato prevedeva una temperatura iniziale di 70°C mantenuta per 2.0 min seguita da una variazione di 5.0°C/min fino ad arrivare a 300°C. La trasfer line di comunicazione tra il gascromatografo e lo spettrometro di massa è stata riscaldata a 290°C. Gli spettri di massa, utilizzati per il riconoscimento delle sostanze, sono stati acquisiti in full mass in un intervallo compreso tra 50 m/z - 600 m/z. Le medie (valori in scala logaritmica) del contenuto degli EPA ottenute sono state: nel tonno fresco 6.46, nel tonno abbattuto 6.33; nello sgombro fresco 6.96, nello sgombro abbattuto 7.22; per quanto riguarda DHA, nel tonno fresco 7.29, tonno abbattuto 7.05; sgombro fresco 7.43, sgombro abbattuto 7.72. In tutti i campioni di entrambe le specie la media del contenuto di DHA risultava superiore a quella di EPA e quella di entrambi gli acidi grassi superiore nello sgombro rispetto al tonno. Inoltre in entrambe le specie si rileva una media del contenuto degli acidi grassi presi in esame molto simile tra campioni congelati e freschi. I risultati mostrano che il congelamento alla combinazione

tempo/temperatura prevista dalla normativa per l'abbattimento termico del pesce destinato ad essere consumato crudo o praticamente crudo non determina un abbassamento significativo del contenuto di acidi grassi PUFA a discapito della qualità nutrizionale nelle due specie prese in esame, confermando quanto rilevato in alcuni studi secondo i quali il congelamento a -18°C per periodi di tempo assai più lunghi (fino a 12 mesi) determina scarse alterazioni a carico del contenuto dei PUFA. Il congelamento a basse temperature per brevi periodi può invece avere un effetto protettivo sul pesce, riducendo l'attività enzimatica e la conseguente ossidazione lipidica rispetto a trattamenti che si avvalgono di temperature superiori, quali la refrigerazione.

Ringraziamenti: Questo studio è stato finanziato dal Ministero della Salute (2013 IZSPLV 06/13 RC).

P003

Specie tossiche invasive (famiglia *Tetraodontidae*) lungo le coste italiane: un rischio emergente per la salute pubblica

Andrea Armani¹, Lisa Guardone¹, Alice Giusti¹, Francesca Susini², Alessandra Guidi¹, Laura Gasperetti²

¹FishLab, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Pisa, Italia

Numerose specie appartenenti alla famiglia *Tetraodontidae* ("pesce palla") sono attualmente presenti nel Mar Mediterraneo. Tra queste *Lagocephalus sceleratus*, originario del Mar Rosso ed arrivato nel Mar Mediterraneo attraverso il canale di Suez nel 2003, rappresenta una delle specie più tossiche ed altamente diffusive, ed è pertanto annoverato tra le specie aliene invasive. Dal 2013, anno del primo ritrovamento ufficiale di *L. sceleratus* in acque italiane, è stato segnalato un numero crescente di esemplari. Oltre a questa specie, anche *Lagocephalus lagocephalus* e *Sphoeroides pachygaster*, a minor tossicità ed invasività, sono segnalate da tempo lungo le coste italiane. Questo studio rappresenta uno dei primi tentativi di descrivere sistematicamente la presenza nel Mediterraneo, e in particolare lungo le coste italiane, delle tre suddette specie, al fine di caratterizzare un rischio emergente per la salute pubblica.

Sono state raccolte tutte le segnalazioni delle 3 suddette specie riportate in articoli scientifici e in specifici database online. Per ciascuna segnalazione sono stati raccolti i seguenti dati (quando disponibili): numero di esemplari e tipo di segnalazione (cattura o osservazione), ubicazione geografica e data della segnalazione, dimensione del pesce (peso e/o lunghezza), profondità e tipo di fondale. Complessivamente, almeno 111079 esemplari delle tre specie sono stati trovati nel Mar Mediterraneo, tra cui 110237 esemplari di *L. sceleratus* (a partire dal 2003), 126 di *L. lagocephalus* (1878-2017) e 716 di *S. pachygaster* (1979-2017). Confrontando il numero di esemplari delle tre specie segnalati dal 2003 ad oggi, è stata osservata una differenza evidente tra la frequenza di *L. sceleratus* (n=110237, 99,2% del numero totale di record) e quella di *L. lagocephalus* (n=111, 0,1%) e di *S. pachygaster* (n=104, 0,1%). Per quanto riguarda le segnalazioni in acque italiane, sono state riscontrate in totale 687 segnalazioni (92 di *L. sceleratus*, 30 di *L. lagocephalus* e 565 di *S. pachygaster*). Attualmente, la presenza di *L. sceleratus* sembra essere limitata alle coste di Sicilia, Puglia e Calabria, mentre *L. lagocephalus* è stato segnalato in Sicilia, Calabria, Toscana e Sardegna e *S. pachygaster* in Sicilia, Sardegna, Puglia, Calabria, Liguria, Lazio e Toscana. I nostri dati confermano il carattere invasivo di *L. sceleratus*, che

rappresenta la principale preoccupazione per la salute pubblica. Tale specie si è infatti già resa responsabile di intossicazioni letali in altri paesi del bacino Mediterraneo. Nonostante questa specie sia stata registrata lungo le coste italiane in basso numero (0,08% degli individui totali di *L. sceleratus*) e la sua attuale distribuzione sia limitata alle regioni meridionali, il quadro potrebbe cambiare rapidamente. Inoltre, i dati raccolti mostrano che la maggior parte degli esemplari di *L. sceleratus* hanno una grande dimensione e sono principalmente catturati da attrezzi da pesca commerciali. Questi fattori possono aumentare il rischio che questa specie entri nella catena ittica con gravi conseguenze per la salute dei consumatori. I risultati suggeriscono che la presenza di *L. sceleratus* debba essere strettamente monitorata attraverso misure istituzionali finalizzate ad informare gli operatori di settore riguardo a questo nuovo pericolo.

P004

I molluschi bivalvi vivi consumati in Lombardia sono sani e sicuri? Risultati del biennio 2017-18 secondo le indicazioni dell'Accordo Stato Regioni del 10 Novembre 2016

Guido Finazzi¹, Enrico Pavoni¹, Barbara Bertasi¹, Giuseppina Andreoli², Cristina Sacchi³, Silvia Colmegna⁴, Irene Bertoletti⁵, Marina Nadia Losio¹

¹IZSLER Reparto Microbiologia, Reparto Tecnologia degli Acidi Nucleici Applicata agli Alimenti, Brescia; ²IZSLER Sezione Diagnostica di Pavia; ³IZSLER Sezione Diagnostica di Binago (CO); ⁴IZSLER Sezione Diagnostica di Milano; ⁵IZSLER Sezione Diagnostica di Sondrio, Italia

I molluschi bivalvi vivi (MBV) sono spesso indicati come causa di episodi di tossinfezione alimentare. L'analisi dei dati ottenuti dal campionamento eseguito nell'ambito del Piano Regionale Integrato dei Controlli ha permesso di avere un quadro generale sul livello igienico sanitario dei MBV presenti nel circuito della grande distribuzione in Lombardia nel 2017 e nei primi 5 mesi del 2018. I criteri indicati dal Reg. 2073/05CE prevedono ricerca di *Salmonella* spp. e numerazione di *E. coli*, ma è fondamentale considerare altri agenti potenzialmente patogeni che possono essere naturalmente presenti negli ambienti marini. Le Linee Guida per i Controlli Ufficiali, riportate negli Atti 212 dell'Accordo Stato Regioni del 10/11/16, suggeriscono infatti di considerare anche altri parametri tra cui virus e *Vibrio* patogeni. Nel 2017 sono stati prelevati dalle ATS della Lombardia, in 1 o 5 unità campionarie, 307 campioni (232 cozze, 48 vongole, 25 ostriche, 2 altre specie) per un totale di 1060 u.c., e nei primi 5 mesi del 2018, 139 campioni (77 cozze, 55 vongole, 6 ostriche, 1 altre specie) per un totale di 427 u.c. La ricerca di *Salmonella* spp. è stata eseguita mediante screening con Real Time PCR e conferma dei positivi mediante metodo ISO 6579-1 su 1040 u.c. nel 2017 e 358 u.c. nel 2018. La numerazione di *E. coli* con metodo ISO 16649-3 è stata eseguita su 1048 u.c. nel 2017 e su 368 u.c. nel 2018. 33 campioni sono stati analizzati nel 2017 per ricerca del virus dell'epatite A (HAV) e Norovirus (NoV) con metodo ISO/TS 15216-2, 46 nel 2018. Solo nel 2018 è stata eseguita la ricerca di *Vibrio* patogeni con metodo ISO/TS 21872-1 su 9 campioni. Nel periodo considerato sono stati isolati 2 ceppi di *Salmonella*, una tipizzata *S. rissen* nel 2017 e una *S. schwarzengrund* nel 2018. Tre campioni prelevati nel 2017 hanno dato risultati non conformi per il parametro *E. coli* secondo le indicazioni del Reg. 2073/05 CE (1 con valore >700 MPN/100 g; 2 per valori compresi nel range m=230 e M=700 in più u.c.); mentre nel 2018 sono stati 7 (5 per valore >700 MPN/100 g; 2 per valori compresi

nel range m e M). Un campione è risultato positivo per NoV GI nel 2017 mentre nel 2018 ben 24 sono risultati positivi per NoV GI di cui 5 anche per NoV GII. Nel 2018 è stato isolato un ceppo di *V. parahaemolyticus* risultato però privo dei fattori di patogenicità.

Il livello igienico dei MBV commercializzati in Lombardia era apparso soddisfacente nel 2017, con solo 4 campioni non conformi (1,3%). Il quadro nei primi mesi del 2018 appare peggiorato con 8 campioni non conformi per i Criteri di Sicurezza del Reg. 2073/05 CE (9,5% del totale), a cui si aggiungono 24 campioni con positività virologica (52,2%) 2 dei quali ostriche, normalmente consumate crude. L'aumento di positività virologiche è probabilmente legato a fattori ambientali che nei mesi invernali possono aver favorito un rimescolamento delle acque a livello di estuari e foci fluviali, e quindi anche una maggior ridistribuzione dei virus nelle acque di miticoltura. Questa ipotesi è supportata dal fatto che 22 positività virologiche sono state riscontrate in vongole, organismi che vivono in stretta simbiosi coi fondali marini. Questi dati evidenziano l'importanza di considerare anche altri fattori di potenziale patogenicità, come virus e *Vibrio* patogeni, per una corretta valutazione igienico sanitaria dei MBV e per rispondere all'esigenza di una maggiore tutela del consumatore.

P005

Analisi chemiometrica degli isotopi stabili e delle terre rare per l'autenticazione d'origine geografica e del metodo di produzione di branzini (*Dicentrarchus labrax L.*)

Maria Olga Varrà¹, Sergio Ghidini¹, Emanuela Zanardi¹, Anna Badiani², Adriana Ianieri¹

¹Università degli Studi di Parma, Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Parma; ²Università degli Studi di Bologna, Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Bologna, Italia

Lo scopo del presente studio è stato quello di verificare, tramite elaborazione chemiometrica dei dati sperimentali risultanti dalle analisi dei rapporti isotopici (SIR) e delle terre rare (REEs), la possibilità di autenticare campioni di branzino (*Dicentrarchus labrax L.*) in riferimento a due delle informazioni che, in accordo alla normativa europea vigente, devono essere obbligatoriamente riportate in etichetta: i) metodo di produzione (selvaggi e allevati); ii) origine geografica (Mediterraneo Occidentale, Centrale ed Orientale, corrispondenti a specifiche sottozone FAO di provenienza). In particolare, si è voluta sfruttare la capacità che le analisi SIR e REEs hanno nel fornire un fingerprint del campione in questione, per elaborare metodi di classificazione secondo tecniche classiche di analisi multivariata dei dati. Il data set oggetto di studio includeva un totale di 144 esemplari selvaggi e allevati di branzino, sui quali è stata determinata tramite Spettrometria a Rapporto di Massa Isotopica (IRMS) la composizione isotopica di carbonio (¹³C) e azoto (¹⁵N) e, tramite Spettroscopia di Emissione al Plasma (ICP-MS) il contenuto in terre rare (La, Eu, Ho, Er, Lu e Th). Nello specifico, i campioni, provenienti da 17 diverse aree geografiche ricadenti nel bacino del Mediterraneo, sono stati raccolti in maniera omogenea durante due periodi dell'anno (primavera-estate, autunno-inverno) e di seguito raggruppati nelle seguenti 3 macro-aree di provenienza: Mediterraneo Occidentale (sottozona FAO 37.1.2 e 37.1.3), Mediterraneo Centrale (sottozona FAO 37.2.1 e 37.2.2) e Mediterraneo Orientale (sottozona FAO 37.3.1). I dati ottenuti sono stati inizialmente sottoposti ad Analisi delle Componenti Principali (PCA, Principal Component Analysis), sia per una valutazione preliminare della distribuzione dei campioni che per identificare la pos-

sibile presenza di outliers. Di seguito è stata effettuata un'analisi discriminante OPLS (OPLS-DA, Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis), allo scopo di sviluppare modelli di classificazione funzionali in grado di discriminare gli esemplari di branzino in base alle condizioni oggetto di studio. I classificatori sviluppati sono stati validati internamente mediante una 7-fold-cross-validation ed esternamente mediante l'utilizzo di un subset di campioni indipendente. Le performance di classificazione risultanti dall'analisi OPLS-DA sono state soddisfacenti sia per quanto riguarda le modalità di produzione che l'origine geografica. Nello specifico, il 100% degli esemplari selvaggi e allevati sono stati correttamente allocati nelle rispettive classi di appartenenza, mentre per quanto riguarda la provenienza, il 92%, 82% e 87% dei campioni sono stati correttamente classificati come originari, rispettivamente, del Mediterraneo Occidentale, Centrale ed Orientale. I risultati ottenuti nel contesto del presente studio dimostrano come l'elaborazione chemiometrica dei dati risultanti dalle analisi SIR e REEs su esemplari di branzino, possa rappresentare una buona strategia analitica atta a garantire la veridicità delle informazioni dichiarate sull'etichetta dei prodotti ittici, in particolare per quanto concerne il metodo di produzione e l'origine geografica.

P006

Valutazione della presenza del Cadmio nei molluschi bivalvi e gasteropodi marini provenienti dal territorio marchigiano nel contesto nazionale

Ersilia Maria Epifanio¹, Mario Latini¹, Ivan Corti², Renato Malandra³, Anna Rita Loschi⁴

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell' Umbria e delle Marche "Togo Rosati" Perugia; ²Consulente Veterinario, Milano; ³Veterinario Responsabile S.S. Mercati Generali, ATS Città Metropolitana di Milano; ⁴Università degli Studi di Camerino, Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Matelica (MC), Italia

Il Cadmio (Cd) è un contaminante che desta preoccupazioni per la salute pubblica. Organismi filtratori come i molluschi bivalvi sono tra i primi cinque tipi di alimento umano per concentrazione di Cd. In base al Reg. CE n.1881/2006 e successive modifiche il tenore massimo di Cd presente nella parte edule dei molluschi bivalvi deve essere di 1,0 mg/kg limite a cui sono soggetti anche i molluschi gasteropodi. I diversi tipi di molluschi lo concentrano in maniera diversa: molti autori hanno dimostrato che la classe dei gasteropodi lo concentra più dei molluschi bivalvi. Lo scopo del lavoro è stato quello di stimare il rischio da Cd associato al commercio dei molluschi bivalvi e dei molluschi gasteropodi marini nel mercato ittico Marchigiano ed Italiano. I dati utilizzati sono stati quelli delle attività di classificazione e monitoraggio igienico sanitario delle zone di produzione dei molluschi bivalvi nei tratti marino costieri di competenza della Regione Marche dal 2009 al 2017 e quelli della vendita dei molluschi del mercato ittico di Milano che rappresenta uno dei mercati ittici italiani di riferimento (circa 11000 tonnellate di prodotti ittici nell'anno 2017). Sono stati analizzati per i livelli di Cd circa 1.500 campioni appartenenti a cinque specie di molluschi, delle quali due specie di gasteropodi *Bolinus brandaris* (Murice Spinoso) e *Nassarius mutabilis* (Lumachino) (5,3% dei totali) e tre specie di bivalvi (94,7%) *Mytilus galloprovincialis* (Mitilo), *Chamelea gallina* (Vongola) e *Ostrea edulis* (Ostrica piatta). Le specie campionate sono state: Mitili 352 (23%), Vongole 1082 (70,8%), Murici 46 (3%), Lumachini 35 (2,3%) ed infine le Ostriche 14 (0,9%). L'analisi dei campioni è stata effettuata con il metodo

ICP-MS e per ogni specie calcolata la media aritmetica. Le concentrazioni di Cd erano al di sotto del livello massimo fissato dalla legislazione europea eccetto per i seguenti campioni: 8 Murici su 46 (17%) e 3 Ostriche su 14 (21,4%). Dai risultati delle medie dei valori di Cadmio emerge che la specie dei gasteropodi Murici è la maggiore accumulatrice di Cd (1 mg/kg), seguita dalle Ostriche (0,91mg/kg), Mitili (1,73 mg/kg), Vongole (0,08 mg/kg) ed infine Lumachini (0,06 mg/kg). Dai dati dei consumi della Regione Marche e del Mercato ittico di Milano emerge che negli ultimi tre anni i consumi di molluschi bivalvi sono in aumento del 15,6% rispetto ai consumi dei gasteropodi in calo dell'8,7% tra il 2016 ed il 2017 e che il consumo di bivalvi supera sempre quello dei gasteropodi (circa 98% del consumo totale di molluschi). La percentuale delle due tipologie di molluschi campionati a livello regionale negli anni (94,7% Bivalvi e 5,3% Gasteropodi) è in linea con quella della loro commercializzazione (98,6% Bivalvi e 1,4% Gasteropodi). Sebbene la specie dei Murici sia la massima accumulatrice di Cadmio, in considerazione del ridotto commercio a livello dei mercati italiani e conseguentemente lo scarso consumo, il rischio chimico non risulta significativo per la popolazione italiana. Nonostante in bibliografia emerga che la classe dei gasteropodi sia la principale accumulatrice di Cadmio, il presente studio dimostra che esistono differenze all'interno delle specie: i Lumachini sono risultati tra i molluschi i minori accumulatori di Cadmio.

Carni e derivati

P007

Valutazione dell'impiego di HPP come trattamento letale nel processo produttivo di diverse tipologie di salame al fine di implementare i fattori intrinseci ed estrinseci che contribuiscono al controllo di *Salmonella* spp.

Paolo Bonilauri¹, Mattia Ramini¹, Silvia Grisenti²,
Elena Cosciani Cunico¹, Roberta Taddei¹, Angela Frustoli²,
Paolo Daminelli¹, Giuseppe Meriardi¹

¹IZSLER, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sedi Bologna, Brescia e Reggio Emilia; ²SSICA, Stazione Sperimentale per l'Industria Conserve Alimentari, Parma, Italia

Lo scopo del presente lavoro è stata la valutazione dell'abbattimento della concentrazione di *Salmonella* spp. durante il processo produttivo seguito da un trattamento ad alte pressioni idrostatiche (HPP) in diverse tipologie di salami al fine di verificare la soddisfazione dell'obiettivo di performance pari a 5 log richiesto da FSIS (*Salmonella* Compliance Guideline for small and very small meat and poultry establishments that produce ready-to-eat, giugno 2017). I dati di abbattimento sono stati ottenuti nel corso di attività sperimentali condotte presso 3 laboratori di ricerca, due localizzati in IZSLER (BO e BS) e la SSICA di Parma. Le ricette sono state scelte tra le maggiormente rappresentative della produzione nazionale tenendo in considerazione la variabilità relativa alle dimensioni della grana, al calibro, alla lunghezza della stagionatura ed alla curva acidificazione in fase di asciugatura. Tutti gli impasti sono stati artificialmente contaminati prima dell'insacco con un mix di almeno tre ceppi di *Salmonella*. La concentrazione di *Salmonella* nell'impasto dopo l'aggiunta dell'inoculo (1% v.v) è risultata almeno uguale a 5.5 log UFC/g. I salami sono stati quindi sottoposti a cicli differenti di asciugatura e stagionatura. La durata dell'asciugatura è risultata compresa tra 4 e 11 giorni, con pH di fine asciugatura tra 4.78 e 5.39. La durata della stagionatura è stata compresa tra 16 e 90 giorni, con aw finale tra 0.881 e 0.949. Al termine della stagionatura i salami sono stati sottoposti a trattamento con alte pressioni idrostatiche (5930 bar, 300 sec). I valori di pH, aw, e la concentrazione di *Salmonella* sono stati determinati in almeno 3 repliche a fine asciugatura ed almeno 5 repliche a fine stagionatura e dopo trattamento HPP. Complessivamente sono stati eseguiti 22 challenge test. Tutti i prodotti hanno rispettato il limite di 1200 Degree/hours (GMP: Meat Institute (USA):1995). Nonostante le condizioni di pH, aw e temperatura fossero in asciugatura teoricamente permissive per lo sviluppo di *Salmonella*, in tutti i processi è stata osservata una riduzione del patogeno, in media uguale a 0.79 (dev.st 0.54) log UFC/g. In accordo con i modelli predittivi disponibili per l'abbattimento non termico di *Salmonella* (www.combase.cc), ogni giorno passato con aw inferiore a 0,96 determina una condizione sfavorevole al patogeno. L'abbattimento osservato a fine stagionatura è risultato in media uguale a 2.33 (dev.st 0.97) log UFC/g. Il trattamento di HPP ha comportato il raggiungimento per tutti i prodotti del target di 5 log di abbattimenti, con un abbattimento complessivo (processo più HPP) minimo di 5.12 log ed un massimo di 8.55 log. Le conclusioni del presente lavoro permettono di trarre alcune indicazioni generali sui salami di carne suina destinati all'export USA, ma che possono essere ugualmente considerate nella gestione del rischio *salmonella* anche nei prodotti destinati al mercato locale. La durata della stagionatura

risulta il parametro principalmente correlato all'efficacia dell'abbattimento di *Salmonella*, in particolare il numero di giorni in cui il prodotto permane sotto aw 0.96. Tuttavia, se si intende sottoporre il salame al trattamento con HPP va considerato che l'efficacia del trattamento ad alte pressioni idrostatiche si riduce man mano che l'aw nel prodotto decresce.

P008

Valutazione dell'impiego di HPP come trattamento letale nel processo produttivo di diverse tipologie di salame al fine di implementare i fattori intrinseci ed estrinseci che contribuiscono al controllo di *Listeria monocytogenes*

Giuseppe Meriardi¹, Mattia Ramini¹, Silvia Grisenti², Elena Dalzini¹, Lia Bardasi¹, Angela Frustoli², Paolo Daminelli¹, Paolo Bonilauri¹

¹IZSLER, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sedi Bologna, Brescia e Reggio Emilia; ²SSICA, Stazione Sperimentale per l'Industria Conserve Alimentari, Parma, Italia

Lo scopo del lavoro è la valutazione dell'abbattimento di *L. monocytogenes* durante il processo produttivo seguito da un trattamento ad alte pressioni idrostatiche (HPP) in diverse tipologie di salami al fine di soddisfare dell'obiettivo di performance pari a 3 log richiesto da FSIS *Salmonella* Compliance Guidelines for small and very small meat and poultry establishments that produce ready-to-eat (RTE) products, giugno 2017 e nel DGI-SAN 0036882-P- Trattamenti di Alte Pressioni (HPP) in prodotti alimentari destinati all'esportazione verso i Paesi Terzi - Chiarimenti applicativi, 29/09/2014. I dati di abbattimento sono stati ottenuti nel corso di attività sperimentali condotte presso 3 laboratori, due localizzati in IZSLER (BO e BS) e la SSICA di Parma. Le ricette sono state scelte tra le maggiormente rappresentative della produzione nazionale tenendo in considerazione la variabilità relativa alle dimensioni della grana, al calibro, alla lunghezza della stagionatura ed alla curva di acidificazione in fase di asciugatura. Tutti gli impasti sono stati artificialmente contaminati prima dell'insacco con un mix di almeno tre ceppi di *L. monocytogenes* o di *L. innocua* come suo surrogato. La concentrazione di *Listeria* spp. nell'impasto dopo l'aggiunta dell'inoculo (1% v:v) è risultata almeno uguale a 5 log UFC/g. I salami sono stati quindi sottoposti a cicli differenti di asciugatura e stagionatura. La durata dell'asciugatura è stata compresa tra 5 e 11 giorni, con pH a fine asciugatura compreso tra 4.78 e 5.41. La durata della stagionatura è stata compresa tra 21 e 90 giorni, con aw finale tra 0.880 e 0.951. Al termine della stagionatura prevista per ogni singolo prodotto i salami sono stati sottoposti a trattamenti con alte pressioni idrostatiche (5930 bar, 300 sec). I valori di pH, aw, e concentrazione di *Listeria* sono stati determinati in almeno 3 repliche a fine asciugatura ed almeno 5 repliche a fine stagionatura e dopo trattamento HPP. Complessivamente sono stati eseguiti 18 challenge test. Tutti i prodotti hanno rispettato il limite di 1200 Degree/hours. Nonostante le condizioni, di pH, aw e temperatura fossero in asciugatura teoricamente permissive per lo sviluppo di *L. monocytogenes*; in tutti i processi è stato osservata una riduzione del patogeno in media uguale a -0.90 (dev.st 0.46) log UFC/g. In accordo con i modelli predittivi disponibili (www.combase.cc) ogni giorno passato con aw inferiore a 0.96 determina una condizione sfavorevole al patogeno. L'abbattimento osservato a fine stagionatura è risultato in media uguale a -1.64 (dev.st 0.78) log UFC/g. Il trattamento di HPP ha comportato il raggiungimento per tutti i prodotti del target di -3

log, con un abbattimento complessivo (processo più HPP) minimo di -3.17 log ed un massimo di -4.89 log. Le conclusioni del presente lavoro permettono di trarre alcune indicazioni generali sui salami di suino destinati all'export USA, ma che possono essere considerate nella gestione del rischio *L. monocytogenes* anche nei prodotti destinati al mercato locale. Il pH di fine asciugatura e la durata della stagionatura risultano i parametri principalmente determinanti per l'abbattimento del patogeno. Tuttavia, se si intende sottoporre il salame al trattamento con HPP va considerato che l'efficacia del trattamento ad alte pressioni idrostatiche si riduce man mano che l'aw nel prodotto decresce.

P009

Valutazione delle cariche microbiche su superfici a contatto con gli alimenti in macellerie abruzzesi dopo sanificazione

Pierina Visciano¹, Maria Schirone¹, Gabriella Di Serafino², Antonello Paparella¹

¹Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo; ²Specialista in Sanità Animale, Allevamento e Produzioni Zootecniche, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italia

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare le cariche microbiche di diverse superfici a contatto con gli alimenti presenti in 5 macellerie (nominate da A a E) situate nella regione Abruzzo. Il campionamento è stato eseguito immediatamente dopo le operazioni di pulizia e disinfezione per la ricerca di mesofili aerobi (MA), enterobatteri e *Salmonella*. Le superfici prese in considerazione sono state: affettatrice, sega a nastro, lama del coltello, piano di lavoro in teflon per carne e ossa, corpo del tritacarne, superficie interna della macchina per hamburger, vassoio per carne macinata, ganci in acciaio e maniglia della cella refrigerata. Il campionamento delle superfici è stato effettuato con tamponi con punta in cotone inumiditi in 10 mL di soluzione fisiologica sterile (SRK, Copan Italia, Brescia), strisciati sulla superficie da campionare previa delimitazione di un'area variabile da 20 a 100 cm² mediante mascherine sterili in polipropilene. I tamponi sono stati stemperati in 10 mL di soluzione salina contenente 0,1% di peptone (p/v), trasferiti in laboratorio a 4°C e analizzati entro 1 ora. Tutte le analisi sono state condotte in triplicato. Tra le superfici esaminate nelle 5 macellerie oggetto dell'indagine, considerate singolarmente, non è stata osservata alcuna differenza statisticamente significativa (p>0,05), mentre è stata osservata una differenza statisticamente significativa (p<0,05) tra le macellerie B e D valutando tutte le superfici complessivamente. In relazione alla carica dei MA, le superfici venivano classificate in 3 categorie: i) conforme, se i risultati erano compresi tra inferiori al limite di rilevazione del metodo e 29 UFC/cm²; ii) migliorabile, se compresi tra 30 e 99 UFC/cm²; non conforme qualora pari o superiori a 100 UFC/cm². I risultati di MA hanno evidenziato che le superfici maggiormente contaminate erano la sega a nastro, la superficie interna della macchina per hamburger e il corpo del tritacarne con valori massimi di 350, 150 e 780 UFC/cm², rispettivamente. Si può ipotizzare che tali risultati siano dovuti alla difficoltà di eseguire una corretta sanificazione per alcune superfici o alla necessità di smontare per la pulizia le macchine composte da più componenti, come il tritacarne. Riguardo alle superfici facili da pulire, quali affettatrice e lama del coltello, cariche relativamente alte di MA erano presumibilmente dovute al loro continuo utilizzo giornaliero. Enterobatteri e *Salmonella* sono risultati inferiori a 10

UFC/cm² e inferiori al limite di rilevazione di 1 UFC/cm², rispettivamente. Sebbene non siano stati ancora stabiliti limiti normativi per le superfici a contatto con gli alimenti, è auspicabile la definizione di valori di riferimento al fine di monitorare le procedure di sanificazione. Sulla base dei risultati ottenuti, valori inferiori a 29 e 10 UFC/cm² per MA ed enterobatteri, rispettivamente, possono essere suggeriti come possibili criteri da adottare per le industrie alimentari nel settore delle carni.

P010

Valutazione della conformità ai criteri di igiene di processo di carcasse bovine in un macello della regione Marche

Antonello Paparella¹, Pierina Visciano¹,
Alberto Aldo Maria Olivastri², Maria Schirone¹

¹Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo; ²A.S.U.R. Marche, SIAOA-Igiene degli Alimenti di Origine Animale, Ascoli Piceno, Italia

Ai sensi del Regolamento CE N. 2073/2005 sui criteri microbiologici, modificato dal Regolamento CE N. 1441/2007, le carcasse di diverse specie animali devono essere analizzate per il conteggio di mesofili aerobi ed *Enterobacteriaceae*, al fine di valutare il grado di igiene del processo di macellazione. In particolare, le carcasse devono essere campionate dopo la macellazione, ma prima del raffreddamento, da 4 siti di prelievo per ogni carcassa, secondo la ISO 17604:2003, utilizzando un sistema a 3 classi (soddisfacente, accettabile e insoddisfacente) per l'interpretazione dei risultati. Oltre ai sopra citati gruppi microbici, è richiesta anche l'assenza di *Salmonella* spp. Nel presente studio i criteri di igiene di processo stabiliti per le carcasse bovine sono stati monitorati in un macello situato nella regione Marche nel corso dell'anno 2017. Conformemente al Regolamento, in ogni sessione di campionamento sono stati prelevati campioni da 5 differenti carcasse, in 4 diversi siti per ognuna di esse, tenendo conto della tecnica di macellazione utilizzata in ciascun impianto, e successivamente aggregati così da costituire un unico campione per carcassa. Pertanto un totale di 25 campioni, raccolti ad intervalli di circa 3 mesi (gennaio, aprile, giugno, settembre e dicembre), sono stati analizzati secondo i metodi di riferimento che corrispondono a ISO 4833:2003 e ISO 21528-2:2004 per mesofili aerobi ed *Enterobacteriaceae*, rispettivamente. Per valutare la presenza di *Salmonella* spp. è stata utilizzata la metodica EN/ISO 6579:2002. Tutte le analisi sono state eseguite in triplicato. È stata riscontrata una differenza statisticamente significativa ($p < 0,01$) tra i campionamenti effettuati a gennaio e settembre sia per *Enterobacteriaceae* che per mesofili aerobi, così come tra aprile e settembre sia per *Enterobacteriaceae*. La carica mesofila aerobia variava tra 5 e 380 UFC/cm² con valori più elevati a giugno e settembre, mentre i risultati relative alle *Enterobacteriaceae* erano sempre inferiori al limite di rilevazione del metodo di 10 UFC/cm², tranne che negli stessi mesi nei quali i valori erano compresi tra 1 e 27 UFC/cm². *Salmonella* spp. era assente nell'area esaminata in tutti i campioni analizzati. Tutti i risultati ottenuti erano inferiori al valore minimo stabilito dalla normativa comunitaria e pertanto ritenuti soddisfacenti. In ogni caso, come ampiamente documentato dalla letteratura scientifica, i dati relativi ai criteri di igiene di processo indicano soltanto un andamento generale del processo di macellazione ma non sono correlabili alla prevalenza di microrganismi patogeni nelle carni.

P011

Prevalenza, livelli di contaminazione e caratterizzazione di ceppi di *Campylobacter* termotolleranti isolati da suini

Guido Di Donato^{1,2}, Roberta Nuvoloni², Katuscia Zilli¹,
Gabriella Parisciani¹, Elisabetta Di Giannatale¹,
Gabriella Di Serafino¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo; ²Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa, Italia

Campylobacter spp. è il microrganismo più comunemente associato a malattie di origine alimentare in Europa. Ad oggi, le carni di pollo costituiscono l'alimento maggiormente a rischio, ma anche le carni suine sono all'attenzione dei ricercatori, poiché il suino risulta spesso infetto da *Campylobacter* spp, seppur in modo sub-clinico. *Campylobacter jejuni* è considerata la specie maggiormente responsabile d'infezione nell'uomo, ma numerosi studi hanno messo in evidenza che, nel 10% dei casi, le infezioni umane sono sostenute da *Campylobacter coli*, specie che presenta una maggiore resistenza nei confronti degli antimicrobici. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la presenza di *Campylobacter* termotolleranti nelle feci e nelle carcasse di suini al macello, valutando le possibili cross-contaminazioni durante la macellazione. Il campionamento è stato effettuato in un macello suino situato in Abruzzo, nell'arco di un intero anno, suddividendo i prelievi per stagione. Durante le sessioni di macellazione sono stati selezionati, attraverso modalità random, 280 animali. Per tutti gli animali campionati la fase di ingrasso era stata effettuata in Italia, in allevamenti ubicati in diverse regioni: Abruzzo, Puglia, Umbria, Emilia Romagna e Piemonte. Da ciascun animale, identificato in maniera univoca, è stato prelevato dopo l'eviscerazione il contenuto fecale e, prima del raffreddamento delle carcasse, sono stati effettuati i tamponi superficiali. L'isolamento e la numerazione di *Campylobacter* spp. sono stati effettuati secondo il metodo ISO 10272:2006; successivamente i ceppi sono stati identificati in PCR ed è stata eseguita la tipizzazione mediante PFGE, utilizzando il Protocollo Pulsenet (CDC). L'antibiotico-resistenza con determinazione della MIC è stata saggiata mediante metodo della microdiluzione su piastra con sistema automatizzato (Sensititre, ThermoFisher, Italia). La prevalenza di contaminazione è risultata pari al 50,4% (141/280) nelle carcasse e pari al 32,9% nelle feci (92/280), mostrando differenze stagionali. Nel 90,8% delle carcasse positive (128/141) i livelli di contaminazione sono risultati bassi (<10 ufc/cm²). In 11 campioni (7,8%) le contaminazioni sono risultate fra 10 e 50 ufc/cm² e in due campioni (1,4%) fra 100 e 150 ufc/cm². Tutti gli animali positivi risultavano contaminati da *C. coli*, tre animali erano positivi anche per *C. jejuni*. L'R-type predominante è risultato TeSCipNa (56,5%). Alla PFGE sono state identificate 28 popolazioni clonali di cui 7 maggiormente rappresentate. I ceppi isolati sono risultati resistenti a Tetracicline (90,5%), Streptomycin (88,5%), Ciprofloxacina (67%) e Acido Nalidixico (67%). Molti ceppi di *C. coli* sono risultati multiresistenti. Le alte prevalenze dimostrano la circolazione del patogeno anche nel comparto suinicolo e la cross-contaminazione delle carcasse durante la macellazione, come testimonia la maggiore percentuale di positività riscontrata nelle carcasse rispetto alle feci. La bassa dose infettante necessaria a determinare campylobacteriosi nell'uomo (<500 cellule) evidenzia l'importanza di ridurre la prevalenza dei *Campylobacter* in allevamento, e dell'importanza dell'igiene della macellazione per prevenire la contaminazione delle carcasse e quindi delle carni.

P012

Il controllo ufficiale degli additivi alimentari utilizzati nei prodotti a base di carne nell'Area Vasta n. 4 di Fermo alla luce delle nuove linee di indirizzo della Regione Marche

Loredana Di Giacomo¹, Antonio Angellotti¹, Gabriela Ciccaleni¹, Ezio Ferretti¹, Sandro Fichera¹, Valentina Gentili¹, Francesco Livini¹, Luigi Marilungo¹, Flavio Pasquali¹, Angeliki Riganatou¹, Simonetta Ruggeri¹, Stefano Rea²

¹Dipartimento di Prevenzione, Servizio degli Alimenti di Origine Animale, Asur Marche Area Vasta n. 4 di Fermo; ²Università degli Studi di Camerino, Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Camerino (MC), Italia

Tra il 2010 e il 2017 il Servizio Ispezione degli Alimenti di Origine Animale dell'Area Vasta 4 - Fermo (SIAOA AV 4 FM) della Regione Marche ha effettuato il controllo sull'utilizzo degli additivi alimentari (AA) presso le imprese che producono prodotti a base di carne (PBC) mediante campionamenti di alimenti volti a determinare, in particolare, il rispetto dei limiti di impiego di nitrati e nitriti. In caso di esito sfavorevole, veniva eseguito un controllo più approfondito dell'uso di tali AA, senza tuttavia linee di indirizzo condivise. Nel dicembre 2017 la Regione Marche ha emanato il primo "Piano regionale del controllo ufficiale degli AA per il periodo 2017-2018" (Decreto n. 188/2017) per uniformare le procedure di controllo nell'intera filiera degli AA. Di conseguenza, il SIAOA AV 4 FM ha elaborato per il primo semestre 2018 un piano per il controllo di tali sostanze negli stabilimenti riconosciuti per i PBC, in quanto tipologia prevalente nel territorio. I controlli ufficiali sono stati eseguiti mediante ispezione e hanno previsto, oltre ai campionamenti specifici dettati dal piano alimenti regionale, la compilazione della check list riportata nel citato Decreto, che prevede 5 punti chiave, integrati da altre informazioni di tipo "conoscitivo". Nel corso di 22 sopralluoghi è emerso quanto segue: nessuno stabilimento aveva effettuato una formale classificazione degli alimenti prodotti rispetto alle categorie previste dal Regolamento CE n. 1333/2008, sebbene non siano emerse non conformità legate al non corretto impiego degli AA; ad eccezione di un solo stabilimento, nessuno prevedeva nel piano di autocontrollo una procedura specifica relativa all'uso degli AA; in 3 stabilimenti non compariva un elenco specifico dei fornitori, sebbene i documenti commerciali fossero regolari e tracciabilità e rintracciabilità garantite; seppur non presente una specifica procedura di stoccaggio, in tutti gli stabilimenti gli AA erano riposti in armadi/locali appositamente adibiti; in un solo caso nel piano di autocontrollo risultava evidenza della giustificazione tecnologica dell'utilizzo degli AA; nessun operatore si è dimostrato consapevole dei concetti di *quantum satis* (QS) e di carry over; in nessun caso la pesatura degli AA nella preparazione della concia era considerata un punto critico di controllo; la determinazione di nitriti e nitrati in autocontrollo era prevista solo in 6 stabilimenti, 5 dei quali la eseguivano sugli impasti e 1 sul prodotto finito. Per quanto riguarda le informazioni sugli AA fornite in etichetta, su 150 controlli effettuati sono state riscontrate 10 irregolarità. Da quanto rilevato emerge come le conoscenze dell'operatore siano talvolta empiriche, facendo spesso riferimento alla propria esperienza o ai suggerimenti del venditore, prendendo raramente in considerazione le schede tecniche degli AA (spesso non aggiornate) e la loro composizione. Questo aspetto assume particolare importanza per le sostanze da impiegare secondo il principio del QS e per quanto riguarda la problematica del carry over. In conclusione, se l'adeguata conoscenza dei processi, delle tecnologie di produzione e della normativa da parte dell'Autorità Competente appare indispensabile per il corretto approccio al controllo degli AA, anche la piena consapevolezza del loro uso e della

loro applicazione da parte dell'operatore costituiscono aspetti altrettanto importanti a tutela della qualità dei prodotti alimentari e della salute del consumatore.

P013

Autocontrollo nei macelli in provincia di Bolzano nel biennio 2016-2017: applicazione del Regolamento CE n°2073/2005

Gloria Paolazzi, Michela Rabini, Mara Borghi, Evelin Oberkalmsteiner, Stefano Pontalti, Loredana Vedovato, Dorotea Lombardo

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Bolzano, Italia

Con l'entrata in vigore del Regolamento CE n°2073/2005 viene introdotto l'obbligo per gli operatori del settore alimentare (OSA) di verificare l'igiene di macellazione mediante il campionamento delle superfici delle carcasse prima del raffreddamento. Il presente lavoro è volto a valutare l'igiene di macellazione nei macelli in provincia di Bolzano, mediante l'elaborazione dei dati dell'autocontrollo effettuato nel biennio 2016-2017 presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. Il campionamento è stato eseguito mediante tecnica non distruttiva con l'utilizzo di spugnette abrasive sulle aree della carcassa soggette a più alta contaminazione. In particolare, in Provincia di Bolzano la modalità operativa viene descritta nella circolare n°26/2007 del Servizio Veterinario Provinciale. Lo scopo è quello di autorizzare una frequenza di campionamento ridotta rispetto a quanto previsto dal Regolamento CE n°2073/2005 al fine di fornire un esempio esplicativo da applicare nei macelli provinciali, essendo questi caratterizzati da un volume di macellazione modesto. Le analisi previste per il controllo di igiene di processo sono la ricerca di *Salmonella* spp. mediante metodo di screening PCR Real Time (AFNOR BRD 07/06 - 07/04) e metodo di conferma microbiologico standard, la conta della Carica Mesofila a 30°C e la conta degli Enterobatteri a 37°C con metodi di riferimento ISO. Le specie coinvolte nel campionamento sono: bovini (75.5%), suini (16%), ovini (6%), caprini (1.9%) ed equini (0.6%). Riguardo alla ricerca di *Salmonella* spp. l'elaborazione dei dati ottenuti dalle 393 sedute di macellazione nel biennio, evidenziano la presenza del patogeno in 5 macelli durante 5 sedute distinte. Su un totale di 1497 capi macellati, 7 risultano positivi per *Salmonella* spp., nello specifico 4 suini, 2 ovini ed 1 bovino. Sono state inoltre eseguite nel biennio 261 sedute di macellazione per la conta di Carica Mesofila a 30°C ed Enterobatteri a 37°C: 41 per i suini e 220 per le altre specie ovvero bovini, ovi-caprini ed equini. I risultati ricavati dalla conta di Carica Mesofila a 30°C (M) ed Enterobatteri a 37°C (E) per i suini mostrano che il 68.3% (M) ed il 87.8% (E) sono soddisfacenti, il 14.6% (M) ed il 7.3% (E) accettabili, il 17.1% (M) ed il 4.9% (E) insoddisfacenti rispetto ai limiti dettati dalla circolare n°26/2007 del Servizio Veterinario Provinciale. Per quanto riguarda le altre specie i dati evidenziano che il 71.8% (M) ed il 93.2% (E) sono soddisfacenti, il 18,2% (M) ed il 4,1% (E) accettabili, il 10,0% (M) ed il 2,7% (E) insoddisfacenti. La bassa prevalenza di *Salmonella* spp. dimostra un ridotto livello di contaminazione delle carcasse, tuttavia la percentuale di sedute non soddisfacenti per Carica Mesofila a 30°C ed Enterobatteri, suggerisce l'importanza di adottare misure correttive per migliorare l'igiene di macellazione nelle specie più a rischio (ovini e suini). L'utilizzo della spugna abrasiva per il campionamento, a fronte della praticità e della facilità di utilizzo da parte degli OSA, pone dei limiti diversi rispetto al metodo distruttivo previsto dal Reg.CE n°2073/2005. Un confronto tra i due metodi potrebbe esse-

re utile per valutare la reale capacità di recupero da parte della spugna per quanto riguarda Carica Mesofila a 30°C ed Enterobatteri, con lo scopo di considerare limiti microbiologici specifici riferibili al metodo di campionamento non distruttivo.

P014

Applicazione del sistema CLASSYFARM su allevamenti suinicoli da ingrasso della Lombardia: relazioni tra consumo di antibiotici, benessere e lesioni al macello

Sergio Ghidini¹, Fausto Scalfi², Silvio Borrello³, Angelo Colagiorgi¹, Adriana Ianieri¹, Pierluigi Aldo Di Ciccio¹, Maria Olga Varrà¹, Emanuela Zanardi¹, Antonio Marco Maisano², Enrico Giacomini², Giovanni Loris Alborali²

¹Università degli Studi di Parma, Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Parma; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sezione di Brescia; ³Ministero della Salute, Italia

Il presente lavoro, svolto nell'ambito di un progetto di ricerca "Classyfarm" e finanziato dal Ministero della Salute, ha avuto come obiettivo quello analizzare la presenza o meno di relazioni tra consumo di antimicrobici, lesioni al macello e benessere animale in allevamento, nell'ottica di un approccio integrato alla razionalizzazione dell'uso di antimicrobici. Lo studio è stato svolto su 13 allevamenti, situati in Regione Lombardia. Le partite di suini incluse nelle valutazioni al macello sono state macellate nella stessa struttura, a carattere industriale (400 suini/ora). I dati di consumo degli antimicrobici sono stati raccolti retrospettivamente per l'anno 2016 mediante consultazione dei documenti cartacei (registri, bolle e ricette). Il consumo è stato stimato come giorni di trattamento per animale allevato, abbreviato in giorni/suino, utilizzando le "defined daily dose animal for Italy" (DDDAit) ed un peso standard al trattamento pari a 100 Kg. L'impiego di antimicrobici in categorie diverse dai suini grassi, anche se presenti in azienda, non è stato riportato nel presente lavoro. Le rilevazioni sul benessere animale dei suini all'ingrasso sono state effettuate utilizzando la check-list elaborata dal Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale. Al macello, durante l'ispezione post-mortem, sono state valutate 53 tipologie di lesioni. Dieci tra le lesioni più frequenti e rilevanti sono state selezionate per il confronto con il consumo del farmaco. Le lesioni particolarmente pertinenti alla valutazione del benessere, inoltre, sono state raggruppate nelle quattro categorie (polmonite, pleurite, pericardite, white spot). Le informazioni riguardanti benessere animale, consumo di antimicrobici e lesioni al macello sono state inserite e processate attraverso il sistema di monitoraggio integrato Classyfarm. Le correlazioni tra i consumi di farmaco, benessere e lesioni al macello sono state indagate secondo il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman. I consumi medi di antimicrobici sono risultati, per il 2016, 21 giorni/suino (range 0,1-87,8). Le ABMs rilevate in allevamento (2336 suini, media per azienda 172±14) hanno mostrato un'ampia variabilità. Tale varianza si è riscontrata sia per quanto riguarda ABMs tendenzialmente più legate allo stato sanitario, come sintomatologie enteriche lievi (range 0,0-39,3%) e respiratorie (range 0,0-9,1%), che per ABMs fattori di rischio per lo sviluppo di patologie, come l'imbrattamento fecale del corpo di grado 1 (range 2,6-34,6%) e 2 (range 0,0-85,4%). Le osservazioni al macello (70000 carcasse) hanno riportato una notevole variabilità, con netta prevalenza delle lesioni polmonari tra cui polmonite enzootica (9,3±3,5%) e non (5,1±1,2%) sono state le più rappresentate. Non vi è stata alcuna correlazione significativa tra consumi di antimicrobici, benessere e lesioni al macello. I risultati preliminari di questo lavoro dovranno

essere confermati su un numero più ampio di aziende, tuttavia, l'assenza di correlazione tra i parametri registrati al macello, gli ABMs ed il consumo di antimicrobici, suggerisce la possibilità che i trattamenti effettuati sugli animali possano essere stati non sempre razionali.

P015

Valutazione dell'uso di acido peracetico a concentrazioni e tempi di contatto diversificati, come presidio finalizzato a ridurre la contaminazione superficiale di carcasse suine in catena di macellazione

Donata Trimarchi¹, Massimo Castellani¹, Mattia Giuseppe Zorzi², Andrea Quattrone³, Renzo Mioni⁴

¹Azienda ULSS 9 Scaligera, Verona; ²Lachiver Alimenti S.R.L., Verona; ³Sopura Italia S.R.L., Trento; ⁴Consulente tecnico-scientifico, già direttore di struttura complessa presso Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD), Italia

Le tossinfezioni da *Salmonella* spp. e la contaminazione da enterobatteriacee nella carne sono un annoso problema di salute pubblica. Durante le fasi di macellazione del suino una scorretta pratica di eviscerazione può inquinare le carni. Questa possibilità, unita alla carica microbica già presente sulla cute (reservoir di patogeni durante la scottatura), viene identificata come uno dei maggiori punti critici del layout operativo. Nel lavoro di ricerca effettuato è stata valutata l'efficacia dell'acido peracetico (PAA) a concentrazioni e tempi di contatto diversificati, quale presidio potenzialmente utilizzabile per la riduzione dell'inquinamento superficiale della carcassa. L'ausilio del PAA utilizzato in questa metodica si riterrrebbe efficace per ridurre l'inquinamento microbiologico a livelli conformi ai criteri di igiene di processo previsti dal Reg. (CE) 2073/2005 s.m.i., garantendo comunque l'aspetto qualitativo della carne e la stabilità del pH nelle successive fasi di stoccaggio. In bibliografia, ad oggi, non ci sono studi su tale trattamento nelle carcasse suine. La normativa vigente (Reg. (UE) n. 101/2013) permette esclusivamente l'utilizzo dell'ac. lattico per ridurre la contaminazione microbiologica nella macellazione bovina. Si è ritenuto importante indagare su tale aspetto, che fino ad oggi non presenta studi specifici e validati in grado di garantire la sicurezza microbiologica, l'igiene di processo e la qualità organolettica e chimico-fisica nelle carni. Sono state effettuate analisi comparative su gole suine non contaminate e contaminate con *S. enteritidis* (c.a. 6x10⁵ ufc/ml di sospensione), prima (campione bianco) e successivamente al trattamento suddivisi come segue: · frammenti di muscolo e cotenna (campione complessivo di 100 g) per la determinazione del pH (ISO 2917:1999) e la ricerca degli inibenti (MPI 40/M Rev 1:2017); · metodo non distruttivo mediante spugna abrasiva su 4 punti (2 su cotenna e 2 su muscolo) da 50 cmq per: microrganismi a 30°C (ISO 17604:2015 + ISO 48833-1:2013), Enterobatteriacee a 37°C (ISO 17604:2015 + ISO 21528-2:2017) e *Salmonella* spp. in MPN (ISO 17604:2015 + MPI 83/M Rev. 0:2018); · trattamento delle carcasse a concentrazioni diversificate (100-300 ppm a intervalli di 50 ppm) di soluzione con OXIPUR CS (prodotto Sopura a base di acido peracetico di qualità alimentare con componenti di qualità food grade) per aspersione sulle superfici oggetto del prelievo; · 1° step di prove: contatto del PAA≈1 min. · 2° step di prove: contatto del PAA≈2 min. · risciacquo totale della carcassa con acqua di rete; · ripetizione del set di campionamento subito dopo il lavaggio delle gole utilizzate; · stoccaggio in cella dedicata a 2°C e ripetizione dei campionamenti a intervalli da 24 a 72 h; I risultati ottenuti sono stati: Aspetto visivo: assenza di alterazioni rilevanti, nessun viraggio di colore; - pH: variazione nella norma (6≤x≤6,4); - Inibenti: assenti ante e post tratta-

mento; - Riduzione contaminazione: · CBT 30°C: riduzione media 82% (Riduzione 0,9Log ufc/cm^q) · *Enterobacteriacee* 37°C: riduzione media del 75% (Riduzione 0,6Log ufc/cm^q) · *Salmonella* spp: riduzione media oltre il 90%. Questo studio ha evidenziato che l'uso di OXYPUR CS come intervento di decontaminazione successivo all'eviscerazione della carcassa suina, comporta, in associazione a buone pratiche di lavorazione, una rilevante diminuzione degli eventuali patogeni e non, presenti sulla mezzena, senza rischio di residui di PAA.

P016

Monitoraggio sanitario e valutazione del benessere di cinghiali selvatici regolarmente macellati catturati nel Parco Naturale Regionale Sirente Velino

Giuseppe Cotturone¹, Michele Podaliri¹, Roberta Stocchi², Francesco Pomilio¹, Vincenzo Cuteri², Stefania Salucci¹, Paola Morini³, Oremo Di Nino³, Francesca De Paulis⁴, Luciano Camerlengo⁴, Nicola Piseigna Orlando⁴, Nadia Sulli¹, Berardina Costantini¹, Salvatore Antoci¹, Daniela D'Angelantonio¹, Luigi Iannetti¹, Giacomo Migliorati¹, Paolo Dalla Villa¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo; ²Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Camerino (MC); ³Ente Parco Naturale Regionale Sirente Velino, Rocca di Mezzo (AQ); ⁴ASL 1 Avezzano-Sulmona-L'Aquila, Italia

Mantenere un corretto equilibrio tra animali e ambiente è di fondamentale importanza per una corretta gestione della fauna selvatica. Le tecniche in uso per far fronte al crescente incremento demografico di ungulati selvatici in Europa, caccia e selecontrollo in primis, non sempre garantiscono elevati livelli di sicurezza alimentare e soprattutto di benessere animale, principali obiettivi dell'articolato quadro normativo comunitario. Nel 2015 l'Ente Parco Naturale Regionale Sirente Velino e l'IZS dell'Abruzzo e del Molise hanno avviato un progetto pilota volto al controllo della popolazione di cinghiali attraverso cattura in recinti mobili e successivo trasporto in un'azienda di Avezzano autorizzata alla macellazione di ungulati selvatici. Il protocollo sperimentale, che si avvale da quest'anno anche del contributo dell'Università di Camerino, prevede: l'accurata visita clinica ante mortem nel luogo di cattura; il monitoraggio di tutte le fasi pre-macellazione, dall'applicazione prima del trasporto delle marche auricolari fino al dissanguamento; accertamenti diagnostici per le principali zoonosi infettive e parassitarie trasmesse dal cinghiale ad altri animali selvatici, domestici e all'uomo; l'accurata visita ispettiva post-mortem delle carcasse e dei visceri; la misurazione del pH del muscolo *Longissimus dorsi* a 45' e 24h dalla macellazione. Lo screening sierologico dei 310 cinghiali catturati nei primi due anni di sperimentazione ha rilevato un elevato numero di positività per *Brucella suis* (14,2%) e per il virus del morbo di Aujeszky (11,6%), con prevalenze più elevate nei soggetti di oltre 18 mesi di età. Il 5,2% dei campioni di fegato, inoltre, sono risultati positivi al virus dell'epatite E. Confortante in termini di salute pubblica è il costante esito negativo degli esami per *Leptospira* spp. e *Mycobacterium* spp. L'apparato respiratorio è risultato quello più frequentemente interessato da alterazioni anatomopatologiche. In una elevata percentuale di cinghiali sono state evidenziate lesioni polmonari granulomatose e di natura parassitaria, nonché polmoniti aspecifiche non purulente. Altre alterazioni piuttosto frequenti sono risultate i granulomi specifici calcificati a livello dei linfonodi sottomandibolari e/o retrofaringei. In 4 soggetti sono state, inoltre, rilevate nel parenchima polmonare e/o epatico cisti di *Echinococcus granulosus*. L'esame parassitologico delle feci ha

rilevato infestazioni multiple (intestinali e broncopulmonari) in un elevato numero di cinghiali (44,8%), mentre quello trichinoscopico 2 positività. Infine, il monitoraggio delle fasi pre-macellazione non ha evidenziato in nessun caso condizioni di stress tali da inficiare il benessere degli animali. Ciò trova conferma nella regolare discesa post mortale del pH del muscolo *Longissimus dorsi* fino a valori compresi tra 5,45 e 5,66 che esclude la presenza di condizioni DFD, alterazioni muscolari conseguenti a stress di lunga durata caratteristiche della selvaggina braccata. Alla luce dei risultati ottenuti, il sistema di cattura mediante recinti mobili seguita da regolare macellazione può essere considerato un possibile modello per il controllo sostenibile della popolazione degli ungulati selvatici. Questo, infatti, garantisce sia il benessere degli animali sia la sicurezza delle carni, favorendo nel contempo lo sviluppo di filiere corte e il turismo grazie anche all'istituzione di marchi di qualità che legano il prodotto al territorio specifico d'origine.

P017

β-lattamasi a spettro esteso (ESBL) ed AmpC in *Escherichia coli* isolati da carcasse di pollo

Luca Fasolato, Jacopo Ferrareso, Ilias Apostolakos, Alessandra Piccirillo

Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università di Padova, Italia

Le β-lattamasi a spettro esteso (ESBL) sono enzimi codificati da geni plasmidici che conferiscono resistenza a penicilline, cefalosporine di 1a, 2a e 3a generazione. Anche altre β-lattamasi, quali le AmpC codificate da geni a localizzazione cromosomica e plasmidica, inducono resistenza verso cefalosporine e cefamicine. Diversi prodotti di origine animale possono veicolare *E. coli* produttori di ESBL/AmpC e, fra questi, le carni avicole potrebbero svolgere un ruolo importante nella loro diffusione. La presente ricerca ha investigato la presenza di *E. coli* produttori di ESBL/AmpC in carcasse di pollo (prelevate dopo la fase di refrigerazione) provenienti da 4 differenti allevamenti e derivanti dallo stesso stock parentale. Il grado di contaminazione delle carcasse (n=80) è stato rilevato mediante metodica quantitativa dopo lavaggio dei campioni in Acqua Peptonata tamponata e semina in Eosin Methylene Blue Agar (EMB) addizionato o meno con cefotaxima (CTX). Le colonie isolate sono state sottoposte ad antibiogramma seguendo le linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). I ceppi resistenti e intermedi sono stati sottoposti a tipizzazione molecolare per l'identificazione del gruppo filogenetico mediante multiplex PCR. L'analisi delle carcasse ha evidenziato livelli di contaminazione superficiale, in generale, superiori a 3 Log UFC/ml di *E. coli* nella maggior parte dei campioni considerati; in alcuni casi la contaminazione ha raggiunto i 5 Log UFC/ml. L'analisi fenotipica delle colonie identificate (n° 236) ha evidenziato una percentuale di ceppi produttori di ESBL e AmpC da moderata (11%) a bassa (4,6%), rispettivamente. La distribuzione dei differenti profili di resistenza è risultata statisticamente differente tra i diversi allevamenti. I ceppi che a vario grado hanno mostrato una parziale o completa resistenza alle molecole testate appartenevano a due filogruppi (B1 e A) che rappresentano complessivamente il 69% dei ceppi esaminati. I ceppi produttori di ESBL sono risultati maggiormente associati ai filogruppi A, B1 ed F; al contempo i ceppi AmpC positivi sono risultati appartenere ai filogruppi B1 e D. Questi risultati preliminari evidenziano come le β-lattamasi studiate siano veicolate sia da ceppi ambientali/commensali (filogruppi A e B1), che da ceppi che pos-

sono associarsi a patologia extra-intestinale nell'uomo e nelle specie avicole (filo-gruppo D). Questi risultati evidenziano la necessità di uno studio più approfondito delle popolazioni di *E. coli* produttori di ESBL/AmpC nella filiera avicola.

P018

Prevalenza e caratterizzazione di *Listeria monocytogenes* nella filiera del pollo da carne

Luigi Iannetti¹, Gino Angelo Santarelli¹, Maria Silvia Mangieri², Vicdalia Aniela Acciari¹, Gabriella Centorotola¹, Marina Torresi¹, Salvatore Antoci¹, Violeta Di Marzio¹, Maria Schirone², Francesco Pomilio¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Listeria monocytogenes*, Teramo;

²Università degli Studi di Teramo, Italia

La richiesta di carni avicole è in costante aumento negli ultimi anni, sia per le caratteristiche nutrizionali, sia per l'attitudine ad essere impiegate nella produzione di una vasta gamma di prodotti trasformati. *Listeria monocytogenes* (Lm), potenziale contaminante della carne di pollo, è in grado di causare una grave patologia di origine alimentare, la listeriosi, che è la quarta zoonosi in Unione Europea, con il più alto tasso di ospedalizzazione (98,9%) e la terza causa di morte (17,8%). Essendo il rischio Lm comunemente associato ai prodotti pronti al consumo, pochi dati sono disponibili in letteratura sull'ecologia di questo batterio nelle carcasse prelevate al mattatoio: stadio cruciale per la sua diffusione nella filiera dei prodotti carnei, rappresentando un punto di possibile persistenza e fonte di origine delle contaminazioni delle fasi successive. Obiettivo del presente studio è stato di valutare la prevalenza di Lm nella cute di carcasse di pollo in due mattatoi avicoli, in un arco temporale di 18 mesi, e di caratterizzare i ceppi isolati al fine di valutare la presenza di cloni persistenti. Da maggio 2016 a gennaio 2018 sono stati esaminati 440 campioni di cute prelevati da carcasse di pollo da carne da 11 lotti macellati in 2 mattatoi e provenienti da 6 allevamenti dell'Italia Centro-Settentrionale, per la ricerca di Lm con il metodo ISO 11290-1. Lo studio faceva parte di un più ampio progetto che prevedeva anche il prelievo di campioni di feci dagli stessi lotti a livello di allevamento e di mattatoio. I ceppi isolati sono stati sottoposti a caratterizzazione, e precisamente: sierotipizzazione con il metodo US/FDA BAM, determinazione del sierogruppo mediante PCR-multiplex secondo Kérouanton *et al.* (2010), Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) secondo il protocollo PulseNet 2013. I profili PFGE sono stati analizzati con BioNumerics versione 7.6. Le similarità tra i profili di macrorestrizione Ascl e Apal sono state calcolate con il coefficiente Dice, applicando una tolleranza di bande del 1.0%. La prevalenza di contaminazione di Lm nella cute è risultata essere del 28.0% (LC 95%: 24,0%-32,3%), con una variabilità tra i singoli lotti compresa tra il 5.0% e il 57.5%. La caratterizzazione sierologica dei 123 ceppi isolati ha permesso di assegnarli per il 45% al sierotipo 1/2c, il 44% al 4b e l'11% all'1/2a. La tipizzazione molecolare ha mostrato l'appartenenza dei ceppi isolati ai sierogruppi IIc per il 45%, IVb per il 44% e IIa per il 11%. La PFGE ha permesso di identificare 18 diversi pulsotipi combinati Ascl/Apal. Non è mai stato rilevato lo stesso pulsotipo in lotti macellati in mattatoi diversi, mentre pulsotipi indistinguibili sono stati ripetutamente rilevati in lotti di provenienza diversa lavorati nello stesso mattatoio, anche a distanza di 18 mesi. La frequente presenza di Lm nei campioni esaminati ha evidenziato la necessità di migliorare le procedure di sanificazione nei mattatoi. Anche se

non sono stati prelevati campioni ambientali, la presenza degli stessi pulsotipi, in lotti di provenienza diversa, e dopo lunghi periodi di tempo, è da considerare indice di un problema di persistenza dei ceppi batterici negli ambienti di lavorazione. L'origine ambientale delle contaminazioni è supportata anche dall'assenza di campioni positivi per Lm nelle feci prelevate in altri punti della filiera da soggetti appartenenti agli stessi lotti.

P019

Ceppo di *Serratia rubidaea* isolato da un campione di wurstel di pollo e tacchino

Ilaria Del Matto, Giorgio Iannitto, Domenico Petrone, Lucio Marino, Francesco Pomilio

Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italia

Lo scopo di questo lavoro è stato di descrivere un caso di contaminazione di un prodotto alimentare (wurstel di pollo e di tacchino) causato da *Serratia rubidaea*. Il deterioramento degli alimenti di origine animale sia di origine vegetale, costituisce una delle maggiori fonti di perdita degli stessi, lungo tutta la catena alimentare e può essere causato dall'invasione e dalla moltiplicazione di microrganismi o insetti, alterazioni fisiche o chimiche, attività di enzimi presenti nell'alimento. La causa più frequente di deterioramento è l'invasione e la moltiplicazione di microrganismi, quali lieviti, muffe e batteri. Gli alimenti deteriorabili o a breve shelf life permettono generalmente la replicazione di molte specie batteriche, le quali sono in grado di replicarsi e determinare malattia nei consumatori oppure nel caso di batteri scarsamente patogeni, di moltiplicarsi e determinare alterazioni macroscopiche che rendono l'alimento non idoneo al consumo umano. Nel caso degli alimenti di origine vegetale circa il 30 % dei prodotti si perdono a causa della replicazione dei batteri. Anche gli alimenti di origine animale sono di frequente contaminati da batteri e resi quindi inadatti al consumo umano. Il campione pervenuto in laboratorio era costituito da una confezione aperta di wurstel di pollo e di tacchino. Il materiale è stato sottoposto ad esame ispettivo, conta di lieviti e muffe e di *Pseudomonas* spp. I risultati degli accertamenti di laboratorio hanno permesso di isolare *Serratia rubidaea* su Cetrimide-fucidin-cefaloridina agar (CFC), con colonie di colore rosso rubino e in numero di $9 \log_{10}$ per grammo. L'esame ispettivo dell'alimento ha permesso di individuare all'interno dello stesso la presenza di una diffusa colorazione rossastra e lo sviluppo di un odore pungente, sgradevole non caratteristico dell'alimento. In letteratura non risultano segnalazioni relative ad alimenti di origine animale contaminati da *Serratia rubidaea*. La sua presenza potrebbe essere rara o sporadica, determinata da un trattamento termico insufficiente del prodotto o da ricontaminazione in fase di confezionamento. In questo caso al fine di evitare il ripetersi di episodi di contaminazione l'azienda produttrice dovrebbe riesaminare il manuale dell'autocontrollo e mettere in atto misure correttive. D'altro canto nel corso delle attività di laboratorio è frequente imbattersi in campioni di alimenti che presentano cambiamenti organolettici spesso determinati dalla presenza di specie batteriche degradanti il substrato, ivi inclusa la produzione di enzimi extracellulari ad attività proteolitica e lipolitica nonché di pigmenti che, nei wurstel di pollo e tacchino, hanno determinato una spiccata colorazione rossa nell'alimento, presenza di essudato e odore sgradevole. *Serratia rubidaea* si trova di frequente nei suoli, nell'acqua, sui frutti (noci di cocco), verdure a foglia e nell'intestino dei roditori. Le verdure da consumarsi crude costituiscono alimenti ad alto rischio, in quanto non sanificate a sufficienza prima del consumo. Infezioni nell'uomo sono state segnalate

a seguito di morso di cavallo in un bambino nonché in soggetti immunocompromessi. L'elevata frequenza di ceppi antibiotico-resistenti complica generalmente il quadro clinico. I microrganismi del genere *Serratia* sono resistenti ai disinfettanti, ragion per cui è difficile effettuare un'approfondita sanificazione degli impianti dopo contaminazione.

P020

Prevalenza e livelli di contaminazione da *Campylobacter* spp. in carne di pollo venduta al dettaglio in Centro Italia

Salvatore Antoci, Diana Neri, Violeta Di Marzio,
Gabriella Di Serafino, Francesca Marotta, Gino Angelo Santarelli,
Margherita Perilli, Romina Romantini, Cristina Marfoglia,
Francesco Pomilio, Elisabetta Di Giannatale

Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Campylobacter*, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italia

Campylobacter spp. dal 2005 in Europa è considerato responsabile del maggior numero di infezioni gastroenteriche nell'uomo e la carne di pollo è ritenuta la matrice alimentare maggiormente implicata nella contaminazione. Nell'ambito della sicurezza alimentare, la valutazione del rischio consente di individuare: il livello di esposizione della popolazione a un microrganismo patogeno, la possibilità di contrarre la malattia e l'efficacia delle strategie di controllo. Nel Regolamento CE 2073/2005 dal 2018 è stato inserito un nuovo criterio di igiene di processo che prevede la determinazione dei livelli di contaminazione di *Campylobacter* spp. nelle carcasse di pollo esclusivamente al macello. Lo studio ha avuto lo scopo di determinare la prevalenza e i livelli di contaminazione di *Campylobacter* spp. in campioni di carne di pollo prelevati al dettaglio nelle regioni Abruzzo, Marche, Molise e Lazio. In totale sono stati prelevati 679 campioni di carne di pollo al dettaglio (288 campioni di petto, 212 di coscia e 179 campioni di hamburger appartenenti a lotti diversi). Tutti i campioni sono stati sottoposti a ricerca e numerazione di *Campylobacter* spp. secondo il metodo ISO 10272 (parte 1 e 2). Gli isolati sono stati identificati mediante Polymerase Chain Reaction (PCR), caratterizzati con Multilocus Sequence Typing (MLST) e determinata la resistenza agli antimicrobici mediante Microdiluzione in piastra per la determinazione della Minima concentrazione inibente (MIC) con sistema automatizzato (Sensititre™, Thermo Fisher, Milano - Italia). La prevalenza di *Campylobacter* spp. è risultata pari al 42,4% nella coscia, 23,9% nel petto e 2,2% negli hamburger. I livelli di contaminazione sono risultati fra 1 e 9 UFC/g in 592 campioni e superiori a 10 UFC/g in 87 campioni (valore medio 1,40 logUFC/g). Sono stati isolati 176 ceppi di *Campylobacter* spp., identificati come *Campylobacter jejuni* (62,5%) e *Campylobacter coli* (37,5%). Riguardo alla resistenza agli antimicrobici, il valore più elevato è stato rilevato per ciprofloxacina (89,8%), seguita da acido nalidixico (81,2%) e tetraciclina (69,3%). Molti ceppi sono risultati resistenti a più di due antibiotici. Con MLST, relativamente a *Campylobacter jejuni*, sono risultati prevalenti i Complessi Clonali (CCs) 353, 354, 21 e 206 e per *Campylobacter coli* il Complesso Clonale (CC) 828 complex. L'elevata prevalenza di contaminazione da *Campylobacter* spp. nella carne di pollo venduta al dettaglio associata all'aumento della resistenza agli antimicrobici rappresenta un grave problema per la salute pubblica. Al fine di ridurre il rischio di contrarre la campylobacteriosi nell'uomo, è necessario attuare: sia adeguati piani di controllo negli allevamenti avicoli che corrette misure di igiene di macellazione e manipolazione degli alimenti.

P021

Cross-contaminazioni durante la preparazione domestica di un'insalata di pollo: studio delle cinetiche di crescita

Anna Franca Sperandii, Patrizia Tucci, Francesco Pomilio,
Giacomo Migliorati

Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Listeria monocytogenes*, Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italia

L'obiettivo del lavoro è stato quello di studiare il meccanismo di trasferimento batterico durante le fasi di preparazione di un'insalata mista di pollo e lattuga. Per lo studio, come veicolo di contaminazione, è stata utilizzata la carne di pollo (petto) contaminata con ceppi di *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* e *Campylobacter jejuni*. Per la valutazione sono state studiate 2 diverse tipologie di situazioni: scenario peggiore (WCS) e scenario migliore (BCS). Sulla base dei dati ottenuti, si potrà sviluppare e validare un modello matematico specifico per le cross-contaminazioni. Le sospensioni di inoculo sono state preparate secondo le linee guida del Laboratorio Europeo di Riferimento per *Listeria monocytogenes* (EURL Lm). I ceppi utilizzati sono stati: *Campylobacter jejuni* ATCC 33291, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. L'inoculo è stato di $3 \log_{10} \text{ufc/g}$ nel prodotto. La contaminazione è stata effettuata con il metodo "per contatto", messo a punto dall'IZSAM. Per entrambi gli scenari, durante la preparazione della pietanza sono stati campionati e analizzati, per ogni patogeno, i seguenti campioni: pollo crudo iniziale (dopo contaminazione), guanti dopo primo taglio, lama del coltello dopo primo taglio del pollo crudo (lama intera), foglie di insalata dopo taglio con coltello (150 g), pollo dopo cottura, pollo cotto dopo sminuzzamento, superficie del tagliere utilizzato durante la lavorazione (20x20 cm), prodotto finale dopo 5 ore di conservazione a $5 \pm 2^\circ\text{C}$ e prodotto dopo la conservazione di 2 gg a $5 \pm 2^\circ\text{C}$. Le determinazioni analitiche sono state: Attività dell'acqua (ISO 21807:2004), Numerazione di *Campylobacter* spp (ISO 10272-2:2006), Numerazione di *Salmonella* spp (Metodo interno), Numerazione di *Listeria monocytogenes* (ISO11290-2:98/ Amendment 1:2004). Di seguito sono riportati i risultati ottenuti dalla differenza logaritmica tra i livelli iniziali e quelli finali in entrambi gli scenari: Worst Case Scenario (WCS): *Listeria monocytogenes*: $3,32-2,48=0,84 \log \text{ ufc/g}$; *Salmonella Typhimurium*: $3,23-2,00=1,23 \log \text{ ufc/g}$; *Campylobacter jejuni*: $3,00-2,30=0,70 \log \text{ ufc/g}$. Best Case Scenario (BCS) *Listeria monocytogenes*: $3,32-1,00=2,32 \log \text{ ufc/g}$; *Salmonella Typhimurium*: $3,23-1=2,23 \log \text{ ufc/g}$; *Campylobacter jejuni*: $3,36-1,00=2,36 \log \text{ ufc/g}$. Dopo la cottura, nella carne *L. monocytogenes* e *C. jejuni* permangono vitali entrambi con una carica di 160 ufc/g, mentre ciò non avviene per *S. Typhimurium* ($<10 \text{ ufc/g}$). Il trasferimento batterico iniziale sui guanti è di $2 \log_{10} \text{ ufc/g}$ per tutti i ceppi. Modello: il tasso di trasferimento (t) può essere determinato paragonando i diversi scenari, stimando i livelli di riduzione e rapportando, come nel nostro studio, Ns/No best case (BCS) scenario e worst case (WCS) scenario. Lo studio dimostra che con l'applicazione di buone pratiche igieniche durante la preparazione degli alimenti si può ridurre notevolmente il rischio microbiologico. Il numero di batteri che permangono nell'insalata mista è in funzione del numero dei batteri trasferiti durante la produzione dell'alimento, e del numero dei batteri che sopravvivono alla cottura. Per dare sostenibilità alla creazione di modelli specifici e per prevedere le cinetiche di crescita saranno utili ulteriori studi.

Latte e prodotti lattiero-caseari

P022

Presenza di *Arcobacter* spp. in ambienti di lavorazione e prodotti della filiera lattiero-casearia

Giovanni Terrosu, Laura Marongiu, Laura Mara, Giuseppina Porqueddu, Alida Delogu, Sebastiano Virgilio, Antonio Fadda

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Sassari, Italia

Scopo del lavoro è di verificare la prevalenza delle specie *A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* nella filiera lattiero-casearia. Nel periodo compreso tra i mesi di aprile 2016 e ottobre 2017 sono stati sottoposti ad analisi n. 217 campioni ambientali e di alimenti, provenienti da n. 20 caseifici situati nel Nord Ovest della Sardegna. La ricerca dei microrganismi veniva fatta attraverso metodi colturali e le colonie caratteristiche sottoposte a esame microscopico ed esami biochimici per la conferma. Per l'identificazione delle specie *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter skirrowii* e *Arcobacter cryaerophilus* sono state utilizzate una Multiplex-PCR per l'amplificazione di un frammento del 16S rDNA e 23S rDNA e una PCR-RFLP del prodotto di amplificazione di un frammento del gene 16S rDNA. Su un totale di n. 217 campioni sono stati riscontrati n. 48 campioni positivi (22,1%). *A. butzleri* risulta la specie di *Arcobacter* che presenta la prevalenza maggiore (79,6% dei campioni positivi). Su un totale di n. 116 campioni ambientali sono risultati positivi n. 30 sponge, di cui n. 17 erano riferiti a superfici che entravano a contatto con l'alimento e n. 13 a superfici che non entravano a contatto con l'alimento. Per quanto riguarda gli alimenti sono stati prelevati in totale n. 64 campioni e n. 11 sono risultati positivi (17,1%). Gli esami eseguiti sui campioni di acqua hanno dato tutti esito negativo. Al contrario si è registrata una prevalenza abbastanza elevata nei reflui di caseificio, corrispondente al 25,9%. Tra gli alimenti le percentuali più elevate di positività sono state riscontrate nei prodotti lattiero-caseari freschi con il 20,7%, e tra questi risultava particolarmente alta nei campioni di ricotta (26,3%). Il riscontro di prevalenze piuttosto elevate di specie potenzialmente patogene di *Arcobacter* anche in alcune tipologie di alimenti, oltreché nei campioni ambientali, conferma i dati presenti in letteratura e dovrebbe indurre ad aumentare l'attenzione nei confronti di questo microrganismo. Oltre al numero di campioni positivi deve essere messo in evidenza che in più della metà dei caseifici esaminati è stata riscontrata almeno una positività. Questo dato, forse più degli altri, indica come nella filiera lattiero-casearia sia presente il pericolo di contaminazione da parte di *Arcobacter* spp. e che di conseguenza dovrebbero essere considerate delle misure preventive in grado di ridurre il rischio. *Arcobacter* può essere considerato come un microrganismo ambientale che trova un habitat favorevole in particolari nicchie ecologiche presenti nei caseifici, in particolare dove vi è una elevata presenza di umidità.

P023

Canestrato pugliese: studio sulla prevalenza dei microrganismi produttori di ammine biogene

Giuseppe Celano¹, Anna Lattanzi², Chiara Disanto², Nicoletta Cristiana Quaglia³, Gaetano Vitale Celano²

¹Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Dipartimento di Scienze del

Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Bari; ²Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Dipartimento di Medicina Veterinaria, Bari; ³Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", DETO, Dipartimento Emergenze e Trapianti d'Organo, Bari, Italia

Le ammine biogene (AB) sono basi azotate a basso peso molecolare, che possiedono attività biologiche. Si possono trovare sia in alimenti crudi, sia in alimenti fermentati. La loro presenza è correlata all'azione di microrganismi che operano la decarbossilazione degli aminoacidi o la transaminazione di aldeidi e chetoni. (Sahu *et al.*, 2016). La concentrazione di AB negli alimenti è importante per valutare i rischi per la salute, infatti possono causare alcuni disturbi nella neurotrasmissione, mal di testa, nausea e palpitazioni. Inoltre è stata dimostrata che l'interazione tra etanolo e ammine sembra essere sinergica, infatti, l'etanolo è in grado di inibire alcuni enzimi intestinali come le monoammino ossidasi (MAO), enzimi coinvolti nella detossificazione delle AB (Glória *et al.*, 2003). Il formaggio è, tra gli alimenti fermentati, quello che più comunemente è associato alle ammine biogene. La proteolisi e la conseguente produzione di AB durante la stagionatura del formaggio dipendono da molteplici fattori: (i) tipo di latte (latte di mucca/pecora/capra); (ii) trattamento termico del latte; (iii) sezione del formaggio (bordo/core); (iv) condizioni di maturazione; (v) condizioni di post-maturazione; (vi) tempo di conservazione e temperatura; (vii) microbiota del formaggio. (Guarcello *et al.*, 2015). Lo scopo della ricerca è stato quello di valutare i tempi di formazione e di correlazione tra la concentrazione di AB, microbiota e tempo di maturazione del Canestrato Pugliese. Il Canestrato Pugliese è un formaggio DOP italiano, prodotto a partire da latte crudo di pecora (Regolamento CEE 1107/96), fabbricato in Puglia. I campioni di formaggi sono stati analizzati a tempi diversi di maturazione. La valutazione dei parametri chimici (pH, AW) e la determinazione di AB sono stati eseguiti su tutti i campioni. Inoltre, mediante un approccio coltura dipendente, sono stati enumerati e isolati i seguenti gruppi microbici: lattobacilli mesofili e termofili, lattococchi mesofili, enterobatteri, stafilococchi, enterococchi. Ottantacinque ceppi su duecentocinquantaquattro isolati mostravano la capacità di produrre AB. Un approccio molecolare sarà utile per chiarire l'entità della correlazione tra i ceppi di diversi gruppi microbici e il contenuto di AB.

P024

Protocollo di screening per la valutazione della flora filo- ed anti-casearia nel latte crudo da destinare alla produzione di formaggio

Virginia Filipello*, Roberto Benevenia*, Lucia Mangeri, Elisa Galuppini, Marina Nadia Losio, Giorgio Zanardi, Barbara Bertasi

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

*Questi autori hanno contribuito in egual misura al lavoro

Il latte crudo rappresenta un ambiente complesso di popolazioni microbiche che include microrganismi di rilevanza tecnologica e di grande interesse in termini di qualità alimentare. Le popolazioni dominanti sono rappresentate dalla flora lattica (LAB - lactic acid bacteria), un gruppo di batteri in grado di fermentare il lattosio coinvolto massivamente nei processi di caseificazione, maturazione e sviluppo delle qualità organolettiche dei formaggi. I LAB più comuni nel latte crudo appartengono ai generi *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, e *Streptococcus*; essi determinano

effetti positivi sul prodotto finito, e per questo rappresentano la flora filo-casearia. I LAB svolgono inoltre un importante ruolo nell'inibizione della proliferazione di batteri patogeni. La flora anti-casearia è invece rappresentata principalmente da batteri sporigeni appartenenti al genere *Clostridium*; *C. tyrobutyricum* è la specie maggiormente coinvolta in fenomeni di alterazione tardiva del formaggio causando ingenti perdite economiche per la formazione di fessurazioni, gonfiore e gas maleodoranti. Queste popolazioni hanno quindi un impatto diretto sullo sviluppo dei prodotti lattiero caseari, e meritano un'accurata valutazione. Ad oggi, la rilevazione di questi microrganismi si basa principalmente su metodi colturali, che sono laboriosi, richiedono lunghi tempi di analisi (fino a sette giorni), non hanno un sufficiente potere discriminante e non permettono di considerare alcune specie di lattici che crescono con difficoltà in laboratorio, generando problemi di sottostima. Per questi motivi abbiamo sviluppato un protocollo di Real Time PCR per la valutazione della flora filo- ed anti-casearia nel latte destinato alla produzione di formaggio, che permetta di valutare rapidamente la proporzione delle popolazioni batteriche che possono influenzare i processi di caseificazione. A seguito di ricerca bibliografica, sono state selezionate sette coppie di primers per la ricerca di *S. thermophilus*, *L. mesenteroides*, *L. lactis*, *L. garviae*, *Lactobacillus* spp., *C. tyrobutyricum*, e *C. sporogenes*. Le condizioni di amplificazione sono state ottimizzate a partire da DNA estratto da ceppi certificati coltivati rispettando l'optimum di crescita. Le reazioni di PCR sono state effettuate con SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Biorad) e la positività dei campioni è stata identificata osservando le curve di amplificazione e di melting. Per la quantificazione sono state costruite curve standard riportando su un grafico i threshold cycles di diluizioni seriali del DNA dei diversi ceppi e il corrispondente valore logaritmico di UFC/mL. Tutte le specie in esame sono state identificate univocamente con curve di melting specifiche. Inoltre, sono stati testati 56 campioni di latte crudo. I LAB del genere *Lactobacillus* rappresentano la popolazione prevalente e sono stati identificati nel 96% (95CI 79-99%) dei campioni, seguiti da *Lactococcus* spp. (39%) e *L. mesenteroides* (13%). *C. tyrobutyricum* è stato indentificato nel 10% dei campioni (95CI 5-21%), ma il livello di contaminazione è risultato inferiore a 2 UFC/ml in tutti i campioni positivi. La possibilità di valutare rapidamente l'idoneità del latte destinato alla caseificazione attraverso questo protocollo potrebbe avere notevoli ricadute economiche per gli operatori del settore lattiero-caseario, e grandi potenzialità applicative nel pagamento del latte secondo qualità.

Non solo carne, pesce e latte

P025

Antibiotico resistenza ed analisi dei profili di restrizione ottenuti mediante Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) di ceppi di *Salmonella Derby*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium* e variante monofasica isolati in Abruzzo e Molise nel 2017

Romina Romantini, Gabriella Di Serafino, Lorena Sacchini, Diana Neri, Elisabetta Di Giannatale

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italia

Dati europei riguardanti casi di salmonellosi verificatisi nell'anno 2016 vedono implicati i sierotipi di *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. typhimurium* var. monofasica, *S. infantis* e *S. derby* come responsabili di patologia nell'uomo, pur se con un trend stabile o ridotto rispetto agli anni precedenti. L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare l'antibiotico resistenza ed i profili di restrizione ottenuti mediante PFGE dei ceppi di *S. typhimurium*, *S. typhimurium* var. monofasica, *S. infantis* e *S. derby* isolati in Abruzzo e Molise nel corso dell'anno 2017. Sono stati analizzati 153 ceppi di *Salmonella*: 23 *S. derby*, 83 *S. infantis*, 12 *S. typhimurium* e 35 *S. typhimurium* variante monofasica. I ceppi provenivano da matrici diverse quali acque superficiali, animali (tamponi cloacali, tamponi carcassa, feci e sovrascarpe) e uomo (feci e urine). La resistenza agli antimicrobici è stata testata con il metodo della microdiluzione in piastra secondo le indicazioni fornite per lo strumento Sensititre (Thermo Fisher, Italia). I batteri coltivati in agar sangue o in altro terreno opportuno sono stati inoculati in Cation Adjusted Muller Hinton Broth with TES (Thermo Fisher, Italia) e dispensati nella micropiastra da titolazione per Gram negativi Sensititre EUVSEC (Thermo Fisher, Italia). I risultati sono stati interpretati dal programma Swin Software v3.2 (Thermo Fisher, Italia) in accordo con la Decisione Europea (2013/652/EU). Gli antibiotici testati sono: ampicillina, azitromicina, cefotaxime, ceftazidime, cloramfenicolo, ciprofloxacina, colistina, gentamicina, meropenem, acido nalidixico, sulfametoxazolo, tetraciclina, tigeciclina e trimetoprim. La PFGE è stata condotta secondo il protocollo PulseNet per *Salmonella* (CDC; Atlanta) ed i risultati analizzati mediante software BioNumerics versione 7.6 (Applied Maths, Belgio). Le *Salmonelle derby* mostrano moderata resistenza a tetraciclina (30.4%). *Salmonella infantis* mostra resistenza variabile agli antibiotici: trimetoprim (94%), tetraciclina (91%), ampicillina (90.4%), cefotaxime (79.5%) e ceftazidime (44.6%), cloramfenicolo (32.5%) e colistina (1%). Tutti i ceppi di *S. typhimurium* risultano resistenti al trimetoprim, il 50% è resistente ad ampicillina e tetraciclina, mentre solo il 16.67% al cloramfenicolo. La variante monofasica di *S. typhimurium* è resistente a: tetraciclina (88,57%), ampicillina (85,71%), cloramfenicolo (8,57%) ed in ugual misura a tigeciclina, trimetoprim e cefotaxime (5,71%). L'analisi dei profili di restrizione per i ceppi di *S. derby*, *S. typhimurium* e variante monofasica ha messo in evidenza la presenza di un cluster avente lo stesso pulsotipo per ceppi provenienti da acque superficiali, alimenti (molluschi bivalvi e carne di suino) e feci umane. L'unico ceppo di *S. infantis* proveniente da feci umane ha evidenziato una stretta correlazione (98%) con ceppi provenienti da allevamenti di pollo e tacchino. La valutazione dell'antibiotico-resistenza mostra la presenza di

sierotipi particolarmente multi resistenti come *S. infantis* e *S. typhimurium* e variante monofasica. I risultati ottenuti mediante PFGE hanno messo in evidenza come per i sierotipi di *S. derby* e *S. typhimurium* e variante monofasica l'alimento resti la fonte primaria di infezione per l'uomo, mentre per ciò che riguarda la *S. infantis*, l'infezione umana sarebbe da associare a ceppi circolanti in allevamenti di pollo e tacchino.

P026

Whole Genome Sequencing: strumento di ultima generazione per lo studio della persistenza di *Listeria monocytogenes* negli ambienti produttivi

Giuliana Blasi¹, Marina Torresi², Monica Staffolani¹,
Vidalia Aniela Acciari², Antonio Rinaldi³, Claudio Patavino³,
Barbara Palombo¹, Fabrizia Guidi¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia;
²LNR per *Listeria monocytogenes*, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e Molise, Teramo; ³CRN per Sequenze Genomiche di Microrganismi Patogeni: banca dati e analisi di bioinformatica, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e Molise, Teramo, Italia

Listeria monocytogenes (Lm) è l'agente eziologico della listeriosi, zoonosi con alto tasso di mortalità trasmessa principalmente con il consumo di cibo contaminato. L'ubiquitarietà e la capacità di moltiplicarsi e/o sopravvivere anche in ambiente refrigerato, rendono Lm uno tra gli agenti patogeni più importanti nell'ambito della produzione alimentare. Molti ceppi sono in grado di persistere negli ambienti di lavorazione per mesi o anni, anche grazie alla capacità di formare biofilm protettivi verso detergenti e sanificanti. Si assume che ceppi di Lm con un genoma sovrapponibile o strettamente correlato appartengano allo stesso clone. Si parla di persistenza se all'interno della stessa struttura, in seguito a campionamenti ripetuti, vengono isolati, per almeno tre volte nell'arco di un anno, ceppi con tali caratteristiche. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di verificare la presenza di ceppi persistenti in un caseificio marchigiano che dal 2013 al 2016 è risultato più volte positivo per Lm, sia da alimenti che da tamponi ambientali. I 44 ceppi isolati nell'arco di questo periodo e conservati nella collezione dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche, sono stati caratterizzati mediante Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), secondo il protocollo PulseNet, dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per Lm, utilizzando gli enzimi di restrizione Apal e Ascl. I profili ottenuti sono stati analizzati con il software BioNumerics versione 7.5 e le similarità calcolate usando il coefficiente di Dice con parametri di ottimizzazione e tolleranza all'1% per entrambi gli enzimi. Il dendrogramma è stato costruito utilizzando il metodo Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages. Una selezione degli isolati è stata ulteriormente tipizzata dal Centro di Referenza Nazionale per Sequenze Genomiche di microrganismi patogeni mediante Whole Genome Sequencing (WGS), utilizzando la piattaforma Illumina con il kit NexteraXT per la creazione delle librerie genomiche ed il sistema NextSeq500 per il sequenziamento. L'assemblaggio delle reads, dopo la fase di trimming, è stato eseguito con il software SPAdes versione 3.8. Per la clusterizzazione, basata sull'analisi dei Polimorfismi a Singolo Nucleotide (SNP), è stato impiegato il programma KSNP3 e l'albero filogenetico, ricavato mediante l'algoritmo del Neighbour-Joining (NJ), è stato costruito sulla base della matrice coreSNP. Il sequenziamento è stato effettuato su un totale di 39 ceppi che avevano mostrato profilo PFGE indistinguibile

per entrambi gli enzimi e su un ceppo risultato indistinguibile con enzima Apal. L'albero NJ, calcolato per 38 di essi aventi coverage sufficientemente elevato, ha evidenziato una differenza media di SNPs pari a 11. L'analisi WGS ha quindi confermato i risultati ottenuti in PFGE. Il ripetuto isolamento nel periodo 2013-2016 di ceppi con basso numero di SNPs differenti, caratterizzati quindi da una stretta correlazione filogenetica, conferma la persistenza di Lm nello stabilimento. L'elevato potere discriminante del WGS ha permesso di definire la correlazione filogenetica di Lm isolate nell'arco del tempo e di individuare ceppi persistenti le cui caratteristiche di produzione di biofilm e di resistenza ai sanificanti, potranno essere valutate *in vitro*.

P027

Determinazione di *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. in campioni di alimenti mediante tre diverse metodiche

Maria Schirone, Pierina Visciano, Antonello Paparella

Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italia

Recentemente è stato riportato un generale incremento di focolai di tossinfezione alimentare dovuti al consumo di alimenti contaminati da *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. *Listeria monocytogenes* è un patogeno in grado di crescere a temperature di refrigerazione, anche in alimenti ad alte concentrazioni saline, rimanendo vitale nel prodotto finito per l'intera durata di conservazione. *Salmonella* spp. si ritrova frequentemente nelle carcasse suine e pertanto è possibile riscontrarne la presenza anche durante la lavorazione di salsicce fresche. La disponibilità di metodi rapidi e affidabili per il rilevamento della presenza/assenza di microrganismi patogeni negli alimenti rappresenta un'importante esigenza per la salute pubblica. Oltre ai metodi convenzionali, coltura-dipendenti, test alternativi sono stati sviluppati negli ultimi anni sia per la determinazione di cellule vitali non coltivabili che per lo screening preliminare di un ampio numero di campioni alimentari. In questo studio sono stati analizzati 10 campioni di salsicce fresche di suino e 8 campioni di oliva ascolana, prelevati da 5 diversi stabilimenti situati nella regione Abruzzo. In particolare, i campioni di salsiccia provenivano da 3 stabilimenti, di cui 2 a carattere industriale e uno a conduzione familiare, mentre quelli di oliva ascolana erano prelevati da 2 diversi stabilimenti, e appartenevano a lotti diversi di produzione. Dopo il prelievo, i campioni, trasportati a 4°C, sono stati analizzati entro 1 ora mediante 3 differenti metodiche: i) metodi convenzionali per la determinazione di *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. validati secondo la ISO 16140-2:2016; ii) test immunologici con VIDAS; iii) Real-Time PCR. Tutte le analisi sono state eseguite in triplicato. I campioni analizzati sono sempre risultati negativi a eccezione di un campione di salsiccia dove è stata riscontrata la presenza di *Salmonella* spp. e un campione di oliva ascolana positivo per la presenza di *L. monocytogenes*. Tali positività sono state evidenziate con tutti e tre i metodi applicati. Inoltre i tre metodi oggetto della presente indagine sono risultati specifici e sensibili per la determinazione dei patogeni studiati mostrando valori di accuratezza che variavano da 83,2 a 99,4%, specificità da 89,3 a 99,1% e sensibilità da 92,4 a 99,5%. In conclusione, i metodi utilizzati possono essere usati per analisi di routine di campioni alimentari e la scelta dipende dalle caratteristiche specifiche di ogni metodo, in termini di costi e tempi di analisi oltre che in funzione della disponibilità di personale specializzato.

P028

Antimicrobial and anti-biofilm activities of a peptide of natural origin against foodborne pathogens: a new weapon to fight old enemies in the food industry

Yolande T.R. Proroga¹, Gianna Palmieri², Marco Balestrieri², Marta Gogliettino², Daniela Cristiano¹, Luca De Stefano³, Ilaria Rea³, Rossella Festa⁴, Aniello Anastasio⁴, Federico Capuano¹

¹U.O.S. Microbiologia e Biotecnologia Alimenti-Dipartimenti Ispezione degli alimenti, IZSM Portici (NA); ²Institute of Bioscience and Bioresources (IBBR), Unit of Naples-National Research Council, Naples; ³Institute for Microelectronics and Microsystems (IMM) Unit of Naples-National Research Council, Naples; ⁴Unità Ispezione, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Naples, Italia

During the last few years, the widespread appearance of naturally occurring antimicrobial peptides (AMPs) has been established in humans and other mammalian organisms. AMPs are essential components of innate immunity, contributing to the first line of defense against infections. The effectiveness and selectivity of AMPs are associated to their physicochemical properties, including the amphipathic nature, net charge, hydrophobicity and conformational flexibility. Although structurally diverse, these peptides are mostly small in size, cationic and predominantly membrane-active. Recently, AMPs have received great attention for their potential benefits to extend the shelf-life of food-products. Among this large group, cathelicidins are the most studied to date and represent a promising class of compounds for food-applications. Cathelicidins belong to the family of cationic AMPs with amphipathic properties, and represent the main part of the immune system in many vertebrates, with a broad-spectrum antimicrobial activity, although food-isolated pathogens have been poorly investigated. Herein, we describe the design and the structural-functional characterization of a new Cathelicidin-derivative peptide, named Cat-ALP. Spectroscopic analyses revealed that Cat-ALP show α -helical conformations, with a fast folding kinetic and a noticeable structural stability under extreme pH and temperatures. Moreover, the peptide evidenced a significant antibiofilm activity and bactericidal efficiency against different foodborne pathogens and specifically towards *Listeria monocytogenes* isolates from food-products and food-processing environments, belonging to the serotype 4b involved in the majority of human-listeriosis cases, with EC50 values in the nanomolar range. Finally, experimental results clearly demonstrated that physical bioconjugation of Cat-ALP to packaging materials surface completely preserves the killing ability of the peptide against *L. monocytogenes* and *S. Thiphymurium*, ensuring a long-term stability and activity of the conjugated system.

This work was supported by Ministero della Salute, RC IZS ME 01/16: "Sviluppo di metodologie innovative per ridurre il rischio di malattie trasmesse da alimenti in prodotti della filiera ittica".

P029

I controlli ispettivi in Penisola Sorrentina, dal piccolo esercizio di commercio alimentare al dettaglio alla somministrazione, dal 2013 al 2017

Francesco Cacace¹, Domenico Gigliotti¹, Lorenzo Piersimoni¹, Francesco Iannello¹, Francesco Boscarelli¹, Rosanna Bruno², Francesco Saverio Castellano², Vincenzo Rapesta², Ciro Rossi³, Domenico Mollica²

¹Università degli Studi di Napoli Federico II, Scuola di Specializzazione in

Ispezione degli Alimenti di O.A., Napoli; ²ASL NA 3 SUD-Servizio IAOA-UOVET.59 Penisola Sorrentina, Napoli; ³Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Istituto d'Ispezione Alimenti O.A., Napoli, Italia

La Penisola Sorrentina in provincia di Napoli è un' area caratterizzata da un territorio geomorfologicamente variegato, che va dal Monte Faito (1400 mt) al mare, e da una popolazione censita in 80.000 abitanti che nella stagione turistica arriva a circa un milione. Scopo del presente lavoro è stato dettagliare e studiare le risultanze delle verifiche ispettive dell'Unità Operativa Veterinaria (UOV) territorialmente competente con maggiore attenzione al settore turistico-ristorativo e di commercializzazione, nonché all'attività lattiero casearia alla luce della vocazione millenaria del territorio per la produzione di diversi formaggi con la presenza di oltre 40 caseifici che esitano prodotti DOP (DENOMINAZIONE D'ORIGINE PROTETTA) e PAT (PRODOTTI AGRICOLI TRADIZIONALI). Le attività dell'UOV territorialmente competente per la Penisola Sorrentina hanno riguardato oltre 1000 controlli sul trasporto di derrate alimentari, l'ambulante, i controlli ai punti di sbarco ed ai pescherecci, gli audit e circa 1200 macellazioni di suini a domicilio effettuate ogni anno. L'indagine relativa al presente lavoro ha interessato un periodo cronologico di cinque anni, dal 2013 al 2017, e si è concentrata su stabilimenti ed opifici a sede fissa come: macellerie-supermercati, pescherie, caseifici riconosciuti e registrati, strutture riconosciute come depositi ittici, centri di spedizione molluschi - CSM, laboratori di sezionamento carni, centri di classificazione uova, sezionamento salumi e formaggi, ecc.. Sono stati inoltre monitorati centri di ristorazione collettiva sociale e commerciale. L'indagine ha permesso di constatare che in 5 anni si sono eseguiti circa 3200 controlli ufficiali nelle 800 strutture fisse analizzate. Nell'ambito di questi controlli si è avuta la contestazione di n. 190 processi verbali di contravvenzione che hanno riguardato in particolare violazioni del Regolamento CE 852/2004, constatazione di cattive condizioni igieniche e ancor più violazioni del Regolamento CE 178/2002 sulla tracciabilità. L'attività di controllo ha portato all'esecuzione di n. 86 sequestri, di cui n. 74 amministrativi, la maggior parte per violazione del Regolamento CE 178/2002 per aspetti relativi alla tracciabilità dei prodotti. I restanti n. 12 sequestri penali hanno riguardato derrate alimentari in cattivo stato di conservazione (art. 5 lett. B della Legge 283/1962) ed hanno portato al sequestro di oltre 3000 kg di alimenti di cui 1795 kg in strutture di ristorazione e 1207 kg in altri esercizi commerciali. Lo studio delle attività di controllo del periodo di riferimento ha evidenziato l'articolata azione ispettiva dell'UOV competente in una realtà territoriale di notevole rinomanza mondiale soprattutto per le caratteristiche del comparto enogastronomico. Tale indagine ha evidenziato problematiche inerenti la ristretta composizione dell'organico della UOV composto da n. 3 medici veterinari ed n. 1 personale TPALL, soprattutto alla luce della costante implementazione delle normative regionali, nazionali e comunitarie.

P030

Indagine sulle differenti modalità di conservazione del campione testimone nella ristorazione collettiva

Elisabetta Mantella¹, Alessandro Testa², Tiziana Civera³, Francesco Chiesa³, Ausilia Grassi³

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali ed Alimentari, Grugliasco (TO); ²Veterinario Convenzionato ASL T05; ³Dipartimento di Scienze Veterinarie, Grugliasco (TO), Italia

La ristorazione collettiva rappresenta, nonostante la crisi che ha caratterizzato questi ultimi anni, un settore che riveste una notevole importanza sia economica, sia sociale. Al 2016 circa 5 milioni e mezzo di persone ne hanno usufruito: tali numeri sottolineano la necessità di garantire un livello qualitativamente elevato dei pasti, nel rispetto dei principi della sicurezza igienica. Le procedure GMP prevedono che venga eseguito, ogni giorno e per ogni pietanza allestita, il "campione testimone": esso rappresenta un importante punto di verifica del processo produttivo, garantendo la rintracciabilità dei prodotti consumati nei giorni antecedenti l'insorgenza di una sospetta MTA. Non essendoci indicazioni cogenti relative alle modalità di gestione e mantenimento per le 72 ore previste, abbiamo voluto eseguire un'indagine analizzando i campioni prelevati presso un sito di ristorazione universitaria, al fine di valutare eventuali differenze ed identificare quindi il protocollo che, permettendo il maggior recupero, garantisca una risposta affidabile. In fase di prelievo del campione testimone da mantenere a temperatura di refrigerazione presso il sito, sono stati allestiti tre ulteriori campioni mantenuti a temperature differenti, secondo il seguente protocollo: abbattimento della temperatura del campione e refrigerazione, refrigerazione diretta e congelamento. I campioni sono stati analizzati (il giorno successivo al prelievo) per la ricerca delle seguenti voci microbiche: Carica Batterica Totale (CBT), Enterobatteri totali, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, Clostridi solfito riduttori. Si è proceduto al monitoraggio di tre differenti tipologie di menù: invernale, primaverile ed estivo, analizzando tutte le pietanze allestite dal lunedì al giovedì. La CBT è risultata la voce microbica presente in pressoché tutti i campioni analizzati ed ha quindi permesso di poterla utilizzare come valore di riferimento. Pur con un'elevata variabilità, per tutti i campioni analizzati la refrigerazione diretta del campione è risultata la pratica che permette un maggior recupero. Gli enterobatteri sono risultati quasi costantemente inferiori a 10⁶ ufc/g e, laddove presenti, sono stati rilevati in cariche maggiori nel campione refrigerato direttamente. Nessuno dei campioni ha permesso l'isolamento di Clostridi solfito riduttori; la presenza di *Bacillus cereus* e stafilococco è risultata contenuta (100 ufc/g) e limitatamente ad alcune pietanze. Lo studio ha permesso di individuare nella refrigerazione diretta del campione subito dopo l'allestimento, il metodo migliore per garantire un maggior recupero della flora microbica presente. Ha altresì evidenziato una estrema variabilità dei risultati verosimilmente riconducibili agli ingredienti delle pietanze che garantiscono la sopravvivenza anche a seguito dell'abbattimento e del congelamento. Infine è emersa l'importanza di una corretta formazione del personale che esegue tale procedura al fine di scongiurare contaminazioni, evento non così improbabile.

P031

Analisi della cinetica di *Staphylococcus aureus* nel processo industriale della pasta all'uovo secca

Daniela Bencardino¹, Luca Agostino Vitali²

¹Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino, Camerino (MC); ²Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute, Università di Camerino, Camerino (MC) Italia

La pasta all'uovo è un prodotto alimentare considerato un'eccellenza nazionale con un'antica tradizione radicata nella regione Marche. Gli alimenti a base di uova risultano spesso associati a contaminazioni da *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e la produzione di tossine termostabili rappresenta un serio rischio per il consumatore (Kadariya *et al.*, 2014; Argudín *et al.*, 2010). Lo scopo del

presente lavoro è stato quello di analizzare la cinetica del patogeno durante il processo industriale della pasta all'uovo secca attraverso studi di challenge test. I campioni di materie prime, di semilavorati e di prodotti finiti sono stati forniti da un'azienda marchigiana mentre per le analisi è stato usato il ceppo standard ATCC 25923. Un primo test è stato eseguito sulle materie prime: semola e misto d'uovo. Ogni campione è stato inoculato con 1 mL di coltura batterica (OD₆₀₀=0.5/mL) ed incubato a 37°C. Successivamente, una superficie circolare di impasto (10 g) è stata inoculata con 100 µL della stessa coltura ed incubata per 24 ore a diverse temperature (10, 22, 30 e 37°C). Le stesse condizioni sono state applicate ad un campione di pasta secca. Ogni test è stato eseguito in triplicato analizzando anche campioni di controllo non contaminati. La crescita di *S. aureus* è stata valutata tramite analisi microbiologica secondo la norma UNI EN ISO 6888-1:2004. Dai risultati è emerso che le materie prime rappresentano un ottimo terreno di crescita. In particolare, l'uovo contribuisce al raggiungimento di una densità cellulare più alta (10¹² Log CFU/mL) rispetto a quella registrata nella semola (10⁹ Log CFU/mL). Il tasso di crescita nell'impasto a diverse temperature ha raggiunto i seguenti valori espressi in Log CFU/g: 10⁵ (10°C), 10⁹ (22°C) e 10¹⁰ (30 e 37°C). Il test eseguito su campioni di pasta secca ha riportato valori più bassi: 10⁵ (10°C), 10⁶ (22 e 30°C), 10⁷ (37°C). Analizzando l'andamento di crescita di *S. aureus* inoculato in campioni derivanti dalle diverse fasi del processo industriale è stato possibile evidenziare che la pasta all'uovo rappresenta un ambiente favorevole per la proliferazione del batterio. L'essiccazione ad alte temperature consente un abbattimento della carica iniziale e la ridotta presenza di acqua nel prodotto secco ne limita la proliferazione. Tuttavia, è necessario monitorare il processo al fine di ridurre o addirittura prevenire la contaminazione di materie prime e semilavorati poiché l'essiccazione non garantisce la sicurezza del prodotto eventualmente compromessa dalla presenza di tossine termostabili.

P032

Valutazione del rischio *Bacillus cereus* nella preparazione domestica dell'insalata di riso. Risultati preliminari

Enrico Novelli, Stefania Balzan, Federico Fontana, Barbara Cardazzo, Luca Fasolato

Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università degli Studi di Padova, Legnaro (PD), Italia

I piatti pronti da consumare freddi trovano largo consumo nei mesi estivi, fra questi si distingue l'insalata di riso che nelle preferenze dei consumatori viene subito dopo il risotto. Il riso ha un pH prossimo alla neutralità ed è composto da carboidrati per quasi l'80% della sua massa. Solo dopo la cottura diventa un eccellente mezzo di crescita per i batteri. Le spore di *Bacillus cereus* si mantengono vitali nel riso anidro (fino a 48 mesi). La bollitura del riso parboiled (20 min a poco meno di 100°C) causa una limitata devitalizzazione delle spore (fra 100 e 1000). Nel riso reidratato, *B. cereus* in 24 ore può raggiungere cariche fino a 10⁷ e 10⁹ UFC/g se tenuto a 26 e 32°C rispettivamente (Harmon and Kautter, 1991; Shelef and Liang, 1982). Gli episodi di malattia alimentare nella cosiddetta forma diarroica vedono coinvolti una variegata tipologia di alimenti mentre la forma emetica è pressoché associata agli alimenti amidacei, e al riso in particolare. La maggior parte dei ceppi di *B. cereus* sono capaci di produrre entrambe le tossine (Beattie and Williams, 1999; Rusul and Yaacob, 1995). Per valutare il rischio concreto di crescita del patogeno nella preparazione domestica

dell'insalata di riso, ne sono stati prodotti due lotti mescolando al riso bollito (20 minuti) gli ingredienti di condimento di più frequente utilizzo (sott'oli, uova sode, wurstel, mozzarella, tonno, prosciutto cotto a cubetti) in rapporto 1:1 con il riso. Un lotto è stato diviso in due aliquote, una lasciata raffreddare a temperatura ambiente (circa 3 ore) quindi trasferita in frigorifero, l'altra immediatamente raffreddata a temperatura <math><6^{\circ}\text{C}</math> mediante un abbattitore domestico quindi trasferita in frigorifero. Per il secondo lotto, dopo aver mescolato il condimento con il riso scolato sono state aggiunte spore di *B. cereus* (EZ Spore Microbiologics, $8,2 \times 10^4$ CFU per pellet) tale da avere una concentrazione compresa fra 2 e 3 log per grammo di insalata. Il lotto è stato diviso in due aliquote, una lasciata raffreddare a temperatura ambiente (circa 5 ore) quindi trasferita in frigorifero, l'altra immediatamente raffreddata a temperatura <math><6^{\circ}\text{C}</math> mediante un abbattitore domestico quindi trasferita in frigorifero. Per il primo lotto, nelle successive 48 ore è stato monitorato il pH e l'attività dell'acqua nonché la conta batterica totale e di *Bacillus* spp. Nel secondo lotto nelle successive 144 ore, oltre alle suddette variabili sono state effettuate la conta di *B. cereus*, spore mesofile e batteri lattici. Per il primo lotto non sono state osservate differenze fra il prodotto raffreddato a temperatura ambiente e quello abbattuto, né per le variabili chimico-fisiche né per quelle microbiologiche. In nessun caso sono state isolate colonie di *Bacillus* spp. Per il secondo lotto di insalata di riso non è stata osservata alcuna differenza nei parametri chimico-fisici come nella carica batterica totale fra il prodotto raffreddato a temperatura ambiente e quello abbattuto. Le cellule vegetative di *B. cereus* da un valore iniziale di 2,5 log/g sono aumentate di mezzo logaritmo nelle prime 50 ore quindi sono diminuite fino a risultare non più numerabili. Le spore mesofile al contrario, dopo 72 ore erano aumentate fino a raddoppiare la carica iniziale. Nelle condizioni ambientali testate non sembra esserci un rischio concreto per *B. cereus* nella preparazione domestica di insalata di riso. Inoltre, l'abbattimento rapido non sembra portare vantaggi dal punto di vista igienico.

P033

Identificazione di spezie irradiate e caratterizzazione del segnale ESR

Leonardo Carosielli¹, Giuliana Marchesani², Michele Mangiacotti², A. Eugenio Chiaravalle²

¹ASL- Inc. UNI FG, Foggia; ²Centro di Referenza Nazionale per la ricerca della radioattività nel settore zootecnico-veterinario, Istituto Zooprofilattico sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italia

Le spezie, apprezzate per il loro caratteristico flavour, colore e aroma, sono alimenti spesso contaminati da microrganismi a causa delle condizioni ambientali e di processo a cui sono sottoposte. I trattamenti termici utilizzati per sanificare le spezie possono causare una significativa perdita di flavour e aroma, mentre altri metodi possono indurre effetti cancerogeni per l'uomo (es. fumigazione). Il trattamento delle spezie con radiazioni ionizzanti, invece, rappresenta una valida alternativa a garanzia di un prodotto sicuro e di qualità. L'irraggiamento delle spezie attualmente è praticato in più di 20 paesi in tutto il mondo, a livelli di dose compresi tra $7 \div 50$ kGy. La legislazione europea relativa all'irraggiamento degli alimenti o loro ingredienti è stata recepita in Italia dal D. Lgs. n° 94 del 30/01/2001 che impone di non superare la dose soglia di 10 kGy e di riportare tale trattamento in etichetta. Tra le tecniche attualmente in uso e a disposizione dei laboratori di prova per i controlli

ufficiali, previsti in tutti gli Stati Membri, la spettroscopia di risonanza elettronica di spin (ESR) viene utilizzata quale metodo di conferma qualitativo per l'identificazione di spezie irraggiate. In questo lavoro sono state considerate sette diverse tipologie di spezie (alloro, basilico, menta, origano, pepe nero, rosmarino e salvia), di uso comune nella cucina italiana e non validate nei metodi ufficiali CEN (Comitato Europeo di Normazione). I campioni, prelevati dalla grande distribuzione, sono stati irraggiati a livelli di dose crescenti nel range $0,5 \div 10$ kGy. I principali obiettivi di questo studio sono: identificare il trattamento radiante secondo il metodo UNI EN 1787:2000 e caratterizzare il segnale ESR per fornire un idoneo protocollo di analisi da utilizzare nei controlli analitici ufficiali. Il protocollo con tecnica ESR consiste nella rivelazione del segnale radioindotto della cellulosa ed è un metodo semplice e rapido in termini di preparazione del campione e lettura strumentale. Dall'analisi dei risultati ottenuti nel presente studio si evince che la corretta identificazione del trattamento radiante dei campioni di spezie considerati è funzione di numerosi parametri: contenuto in cellulosa della matrice analizzata, livello di dose impartita e intervallo di tempo trascorso dall'irraggiamento all'esecuzione dell'analisi. In particolare alcune tipologie di spezie quali salvia e rosmarino sono chiaramente identificabili anche a livelli di esposizione limitata (<math><5</math> kGy) dopo un periodo di oltre un anno. I campioni di rosmarino e alloro manifestano la più elevata radiosensibilità e stabilità, mentre i campioni di spezie quali menta ed origano, caratterizzati da un basso contenuto di cellulosa e/o esposti a livelli minimi di trattamento ($0,5 \div 3$ kGy), possono risultare di dubbia interpretazione. In conclusione per tutte le spezie analizzate, ad alti livelli di dose, l'ESR fornisce risultati qualitativi affidabili e attendibili in tempi rapidi e, previa caratterizzazione del segnale radioindotto, può essere considerata una valida tecnica per analisi di routine da implementare nei controlli analitici ufficiali.

P034

Allergeni alimentari e informazioni volontarie in etichetta: uso e abuso del "può contenere tracce di"

Daniela Manila Bianchi, Elisa Barucci, Sandra Fragassi, Chiara Scordia, Daniela Adriano, Silvia Gallina, Lucia Decastelli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, SC Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Torino, Italia

Il Regolamento UE 1169/2011 (1) relativo alla fornitura di informazioni sugli alimenti ai consumatori, ammette la presenza di informazioni volontarie che non inducano in errore il consumatore, non siano ambigue o confuse e che siano, se del caso, basate su dati scientifici. In attesa di atti di esecuzione della Commissione, sono ammesse ad esempio informazioni volontarie relative alla presenza eventuale e non intenzionale negli alimenti di sostanze che provocano allergie. Tali informazioni sono spesso inserite in etichetta attraverso la dicitura "può contenere tracce di". Tali diciture provocano confusione tra i consumatori e tendono a sollevare i produttori dalla corretta applicazione di buone pratiche di gestione del processo, quali la selezione dei fornitori e la separazione delle varie linee produttive. Il presente lavoro descrive un'indagine preliminare sull'utilizzo della dicitura "può contenere tracce di soia e sesamo" e confronta i dati della ricerca dei due allergeni negli alimenti dichiarati privi. Nel periodo giugno 2017- giugno 2018 sono stati reperiti in commercio prodotti da forno dolci e salati, alimenti ready-to-eat o basi per minestre e sono stati inclusi in uno dei seguenti gruppi: 1. Alimento che può contenere tracce di sesamo (n=32); 2.

Alimento che non riporta la presenza di sesamo tra gli ingredienti (n=32); 3. Alimento che può contenere tracce di di soia (n=34); 4. Alimento che non riporta la presenza di soia tra gli ingredienti (n=27); 5. I campioni del gruppo 1 e 2 sono stati analizzati per la ricerca di sesamo con il test ELISA RIDASCREEN®FAST Sesame test (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany) e i campioni dei gruppi 3 e 4 sono stati sottoposti alla ricerca di soia con il kit ELISA RIDASCREEN®FAST Soya (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany). Sono risultati positivi per la presenza di sesamo, un campione di pangrattato nel gruppo 1 (1/32; 3.1%) e un campione di grissini del gruppo 2 (1/32; 3.1%). Relativamente alla presenza di soia è risultato positivo un campione di preparato per minestra appartenente al gruppo 3 (1/34; 2.9%). Nessun campione del gruppo 4 è risultato positivo. Per quanto riguarda le quantità di allergeni riscontrate, si segnala che la concentrazione di sesamo è risultata pari a 305 e 326 ppm rispettivamente negli alimenti del gruppo 1 e 2. Rapportando queste concentrazioni con il valore di proteine assunte in base alla porzione di alimento potenzialmente assunto e con la ED05 (eliciting dose) del sesamo (1 mg) (2), si è potuto definire il fattore di rischio per i due alimenti pari a 0,7 volte la ED per il grissino e >2 volte la ED per il pangrattato. Per quanto riguarda la concentrazione di soia, essa è stata fissata intorno a 2,6 ppm: tale valore rapportato all'assunzione media di 80 g di minestra per porzione, permette di fissare la quantità di proteine della soia potenzialmente ingerite ben al di sotto della ED05 pari a 22 mg di proteine (3). L'indagine qui riportata necessita di un ulteriore campionamento per implementare la significatività statistica e la tipologia di alimenti. Tuttavia, i primi dati confermano che la dicitura volontaria "può contenere tracce di" potrebbe vincolare i consumatori a scelte obbligate senza definire realmente un rischio maggiore. Resta comunque inteso che le valutazioni quantitative qui riportate non hanno ad oggi valore legale, non essendo le ED riconosciute dalla normativa europea vigente.

Con il contributo di Min Salute, Ric. Corrente IZSPLV 07/16RC.

P035

Olio di palma e alimenti: analisi dei sostituenti e della percezione del rischio da parte dei consumatori

Francesco Chiesa¹, Mattia Bommaci², Linda Brunello², Giorgia Galbo², Ausilia Grassi¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Grugliasco (TO); ²Tecnico della Prevenzione, Libero Professionista, Torino, Italia

L'olio di palma, per le sue proprietà organolettiche e tecnologiche, versatilità e basso costo, è il grasso vegetale più utilizzato al mondo. Negli ultimi anni è stato oggetto dei più discussi dibattiti. Sull'olio di palma è stato detto tutto e il contrario, sia per quanto riguarda il suo impatto sulla salute dei consumatori, sia relativamente all'impatto ambientale delle coltivazioni. C'è chi afferma che l'olio di palma sia un importante fattore di rischio per le malattie cardiovascolari e diabete, chi invece afferma che questo sia ricco di proprietà e di gran lunga migliore di molti altri grassi impiegati in campo alimentare. Difficile individuare che cosa abbia scatenato questa guerra da cui è derivata una vera e propria psicosi collettiva, che ha indotto molte aziende ad eliminarlo dal processo produttivo. Scopo del lavoro è stato quello di monitorare i sostituenti dell'olio di palma in differenti tipologie di alimenti, al fine di poterne valutare l'impatto sulla salute; analizzare i processi produttivi di alimenti contenenti olio di palma o suoi sostituenti, nonché la formazione degli operatori in merito ad un eventuale impatto sulla salute; valu-

tare la percezione del rischio nonché il livello e la qualità di informazione del consumatore sull'olio di palma. Per il monitoraggio dei sostituenti, sono stati controllati 371 prodotti alimentari, presso 10 punti vendita (3 discount, 3 ipermercati, 4 punti vendita di medie dimensioni); per la valutazione del processo e del livello di formazione dell'OSA si sono individuate 14 piccole/medie imprese, utilizzando l'intervista diretta (6 stabilimenti industriali con vendita all'ingrosso e 8 laboratori con annessa o correlata vendita al dettaglio). Per indagare sulla percezione/informazione del consumatore è stato elaborato un questionario, somministrato online per un totale di 998 utenti (di cui solamente 783 utilizzabili). L'analisi dei sostituenti ha evidenziato come questi siano spesso utilizzati in combinazione tra di loro: in generale nel 30% dei prodotti si è osservato il mantenimento delle stesse condizioni (sostituenti a prevalenza satura) e nel 70% il mix utilizzato potrebbe essere responsabile di nuove problematiche (prevalenza insatura). Differenze sono state rilevate, in merito alla formazione, tra le grandi aziende (adesione incondizionata alla sostituzione) e quelle di piccola dimensione (adesione solo su richiesta del cliente). Il sondaggio ha palesato come il consumatore ritenga pericoloso l'olio di palma, ma ha altresì rivelato una totale carenza di corretta informazione. Lo studio ha messo in evidenza, sia per gli OSA sia per i consumatori, una scarsa e non corretta informazione di base sull'olio di palma e sulle possibili conseguenze sulla salute legate al suo consumo. E' inoltre emerso che i sostituenti utilizzati, potrebbero non rappresentare una maggior garanzia, in termini di salute, per il consumatore e che pertanto dovrebbe esserne data una corretta informazione, al fine di permettere alla popolazione di poter effettuare le proprie scelte alimentare consapevolmente.

P036

Elicicoltura: storia, allevamento ed impiego delle chioccioline nel settore alimentare

Francesco Costanzo¹, Germana Giuggioli², Francesca Mamusa¹, Mirko Nairi¹, Roberto Scialla¹, Antonio M.G. Augello³, Tiziana Zottola⁴, Raffaele Marrone⁵

¹Medico Veterinario Libero Professionista, Pisa; ²Medico Veterinario Libero Professionista, Roma; ³ASP Catania Dipartimento Prevenzione Veterinaria, SIAOA, Unità Funzionale Coordinamento Macelli, Catania; ⁴Istituto Zooprofilattico del Lazio e Toscana, Sezione di Latina; ⁵Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

Esistono in natura circa 35.000 specie di gasteropodi terrestri di cui circa 4.000 appartengono al genere *Helix* chioccioline chiamate volgarmente lumache. Gli archeomalacologi ritengono che le chioccioline terrestri abbiano avuto un ruolo rilevante nella storia dell'alimentazione umana. Grandi ammassi di gusci vuoti cosiddetti chiocciolai, ritenuti avanzi di pasto, compaiono abbondanti nei siti archeologici circum-mediterranei databili dal tardo Pleistocene sino all'Olocene (Lubell 2004a). L'inizio della predazione umana a fini alimentari risale al periodo del Cambriano, 500 milioni di anni fa per affermarsi nel Mesozoico, 180 milioni di anni fa. Alimento prelibato per i Greci, le chioccioline erano apprezzate anche dai Romani che ne diffusero l'allevamento. In Italia, fino agli anni '70, gli animali venivano raccolti in natura ed il consumo locale e nazionale era ampiamente soddisfatto. Si assiste oggi, ad un importante sviluppo del settore. Tre sono le specie di effettivo interesse economico e commerciale: *Helix aspersa* (Müller, 1774) riclassificata *Cornu aspersum*; *Helix pomatia* (Linneo, 1758) ed *Helix vermiculata*

(Müller, 1774). L'Italia è il 3° paese europeo per mercato elicicolo, dietro Francia e Spagna. Oltre l'80% del mercato è costituito da chioccioline vive (41% di allevamento, 59% raccolto in natura importato da Marocco, Magreb, Turchia, Grecia, Paesi dell'Est Europa). L'allevamento è a ciclo completo e comprende fasi di riproduzione e di ingrasso e si sviluppa con sistemi di allevamento all'aperto su libero terreno e/o indoor, con alimentazione a base di vegetali freschi e di mangimi. L'allevamento fornisce animali vivi commercializzati per la riproduzione e per uso alimentare, spurgati e puliti pronti per la cucina; e animali macellati, freschi e conservati, in guscio e senza, venduti come tali o trasformati (sughi, patè, salami e preparati vari). Per uso alimentare si utilizzano anche le uova (caviale di lumaca) e la bava (liquore di lumaca). Ma l'attrattiva maggiore di investimento da parte degli elicicoltori è la produzione della bava che per le attività filmante, cicatrizzante, antibatterica, idratante, rigenerante, purificante, esfoliante, antiossidante e protettiva, ha trovato, nei settori cosmetico, medico e farmaceutico utilizzazione come ingrediente di creme di bellezza e di saponi, sciroppi e tavolette masticabili per l'acidità di stomaco e contro la tosse. L'elaborato vuole evidenziare le principali criticità e difficoltà che riscontra attualmente il mondo dell'elicicoltura. Sono descritte differenti tipologie di allevamento che influiscono sul prodotto finito sia dal punto di vista nutrizionale che igienico-sanitario. I dati ottenuti sul campo mostrano una netta differenza in termini di rischi microbiologici e chimici tra allevamento all'aperto e al chiuso, con e senza terra. Alla base delle difficoltà gestionali di questa produzione primaria c'è la scarsità di nozioni scientifiche alle quali l'elicoltore può affidarsi. Inoltre questa filiera non si rapporta ancora ad una organica normativa di riferimento. Un management razionale dell'allevamento, supportato dall'esperienza del medico veterinario igienista, può garantire una buona qualità del prodotto; è necessario comunque colmare il vuoto normativo di una adeguata regolamentazione degli aspetti sanitari dell'allevamento e dei criteri di igiene e di sicurezza alimentare nella produzione della carne e dei prodotti derivati.

P037

***Eisenia foetida* come alimento del futuro: proposta di linee guida per una produzione igienicamente sicura e sostenibile**

Chiara Disanto¹, Doriana Tedesco², Claudia Balzaretto³, Marta Castrica³, Angela Dambrosio⁴, Gaetano Vitale Celano¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari; ²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Animali, Università degli Studi di Milano; ³Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano; ⁴Dipartimento delle Emergenze e dei Trapianti d'Organo-DETO, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia

Una delle grandi sfide che deve affrontare la Società del XXI secolo è quella di garantire un'alimentazione adeguata ad una popolazione in continua crescita. Per questo motivo, facendo seguito all'urgente necessità di fornire fonti alternative di cibo, sono necessarie strategie innovative in grado di soddisfare tali necessità. Una di queste è rappresentata dalla lombricoltura, una biotecnologia basata sull'impiego del lombrico *Eisenia foetida* per favorire il processo di bioconversione di particolari residui organici dell'industria alimentare, gli scarti ortofrutticoli. I lombrichi sono una interessante soluzione in quanto bioconvertono gli scarti ortofrutticoli in vermicompost che può essere utilizzato come fertilizzante organico e in

lombrichi stessi che possono rappresentare una fonte alimentare grazie all'elevato tenore di proteine. Tale processo innovativo, di elevata eco-sostenibilità, è in fase di valutazione preliminare. Al fine di poter prevedere l'utilizzo dei lombrichi come fonte alimentare, sono state redatte delle linee guida di produzione. Scopo di tali linee guida è quello di fornire un manuale di corretta prassi operativa di tutto il processo, dalla produzione al prodotto finito pronto per essere consumato. Le diverse fasi del processo produttivo devono seguire le stesse norme igienico sanitarie previste per gli alimenti tradizionali al fine di garantire la sicurezza alimentare durante l'intera filiera produttiva. Nelle linee guida elaborate sono stati presi in esame in particolare: le tecniche di allevamento, la valutazione delle caratteristiche del substrato di crescita, le caratteristiche fisiologiche della specie utilizzata (*Eisenia foetida*). La fase di allevamento, della raccolta dei lombrichi, delle tecniche di lavorazione per la successiva produzione della farina di lombrichi derivata, sono state dettagliate, con particolare attenzione ai parametri di sicurezza alimentare. Sono state prese in considerazione: l'applicazione delle buone pratiche di igiene (Good Hygiene Practices) e di produzione (Good Manufacturing Practices) da applicare durante la produzione e la commercializzazione della farina di lombrichi, le modalità di immissione sul mercato e di etichettatura del prodotto finale e gli adempimenti che l'Operatore del Settore Alimentare (OSA) deve seguire per avviare tale tipo di attività. Le linee guida sono destinate principalmente ai produttori primari di lombrichi e a tutte quelle imprese del settore alimentare che potenzialmente potrebbero utilizzare la farina di lombrico come fonte alimentare. Le linee guida redatte hanno riguardato la particolare attenzione da rivolgere volendo proporre un alimento non convenzionale che potrebbe rientrare nei cosiddetti "novel food". Attualmente i lombrichi sono una fonte alimentare in alcuni Paesi del mondo tra i quali Cina e Filippine e sono inseriti nel dizionario "Food Science & Technology". Concludendo il lavoro svolto ha fornito un'ampia panoramica su alcune delle tematiche chiave dell'introduzione di un "novel food" da destinare all'uso alimentare umano, cercando di identificare i punti critici da valutare e considerare durante tutta la filiera produttiva al fine di garantire la sicurezza alimentare del consumatore.

P038

Indagine sul livello di conoscenza e di gradimento degli insetti come "food"

Anna Rita Loschi¹, Chiara Totò¹, Roberta Stocchi¹, Antonio Angellotti², Loredana Di Giacomo²

¹Università degli Studi di Camerino, Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Camerino (MC); ²Dipartimento di Prevenzione, Servizio degli Alimenti di Origine Animale, ASUR Marche Area Vasta n. 4 di Fermo, Italia

E' stato predisposto un questionario sull'entomofagia di 38 quesiti per verificare le conoscenze sugli insetti come "food" e valutare la propensione al loro consumo. Ad ogni partecipante all'indagine, condotta presso il polo didattico di Medicina Veterinaria Camerino, sono state consegnate 2 copie: una prima dello svolgimento di un seminario mirato a fornire specifiche informazioni sull'argomento, l'altra al termine dello stesso. Al questionario hanno risposto 73 studenti, 46 femmine e 27 maschi, di età media di 25 anni, per lo più di nazionalità italiana. L'89% dei partecipanti ha indicato di essere a conoscenza dell'entomofagia attraverso internet (81,5%), programmi televisivi (69%), università (63%), riviste (36,9%) e/o in occasione di eventi gastronomici (29%); il 64% di essere informato dell'entrata in vigore della normativa comunitaria che consente la

produzione e la commercializzazione d'insetti per il consumo umano (Regolamento UE 2015/2283); il 10% di avere avuto l'occasione di mangiare insetti o loro derivati in modo consapevole. Indicazioni sullo stile di vita hanno consentito di tracciare il profilo di questi ultimi: assumono abitualmente cibo etnico, mostrano particolare sensibilità per i problemi ambientali e amano viaggiare all'estero. Le principali differenze nei risultati del primo e del secondo questionario hanno riguardato i quesiti relativi ai pericoli sanitari connessi all'entomofagia, alla tracciabilità e alla propensione al consumo d'insetti. In particolare, dopo il seminario è stato registrato un incremento della percentuale di chi ravvisa sia il rischio di reazioni allergiche (dal 45 al 63%) sia di esposizione a pericoli chimici (dal 23 al 38%) e un decremento della percentuale di quelli che intravedono problemi di tracciabilità (dal 50% al 38%). Invariato è risultato, invece, il numero di studenti che ha indicato come possibili pericoli quelli di natura microbiologica (45% del campione). Nel primo questionario la percentuale di studenti che alla domanda "Un regime dietetico che vede gli insetti come alimento cosa ti suscita?" ha indicato "indifferenza" o "disgusto" è stata dell'8,2, mentre nel secondo del 4,1. Testimonianza di una

maggiore propensione all'entomofagia a seguito delle informazioni ricevute è l'incremento dei questionari nei quali per questo quesito sono state barrate le caselle relative a "interesse" e "curiosità" e degli studenti che si sono dichiarati disposti a consumare insetti, passati da 24 a 55. Di questi il 31,5% li consumerebbe esclusivamente sotto forma di proteine in polvere o farine in prodotti da forno e non, il 15,1% interi fritti (chips) o disidratati e il 46,6% in entrambe le forme. Il questionario compilato dopo il seminario, inoltre, ha ottenuto un più elevato numero di risposte affermative in merito alla disponibilità ad assaggiare alcuni piatti illustrati con immagini fotografiche preparati con insetti interi visibili (fettuccine con larve di grillo) e non (cavatelli con farina di grillo, burger d'insetti, barrette energetiche con proteine di grillo e pandoro con farina di baco da seta). Dai risultati dell'indagine è evidente che rispetto a qualche anno fa in cui l'entomofagia era vista con distacco e tendenza fortemente negativa si sta andando verso un approccio più favorevole, forse legato anche all'età anagrafica del campione. Rimane fondamentale il ruolo della corretta informazione al consumatore italiano, che sovente si avvicina ai nuovi prodotti con una certa cautela.

Indice degli autori

Acciari, Vicdalia Aniela	32,36	Cacace, Francesco	4,37
Aceto, Antonio	20	Calvagna, Anastasia	3
Adriano, Daniela	39	Cambiotti, Valentina	23
Alberti, Enrica	20	Camerlengo, Luciano	31
Alborali, Giovanni Loris	30	Capozzi, Loredana	11,14,15
Altissimi, Serena	9	Capuano, Federico	37
Amatiste, Simonetta	16	Carboni, Vittoria	7
Amenduni, Maria C.	20	Cardazzo, Barbara	38
Anastasio, Aniello	16,37	Carosielli, Leonardo	20,39
Andreoli, Giuseppina	24	Caruso, Marta	14,15
Angellotti, Antonio	29,41	Castellani, Massimo	30
Angelozzi, Giuseppe	2	Castellano, Francesco Saverio	4,37
Antoci, Salvatore	31,32	Castrica, Marta	2,5,19,41
Antonini, Giovanni	16	Cattaneo, Patrizia	10
Apostolakos, Ilias	31	Ceci, Edmondo	11
Arienzo, Alyxandra	16	Celano, Gaetano Vitale	34,41
Arioli, Francesco	2	Celano, Giuseppe	34
Armani, Andrea	24	Centorotola, Gabriella	32
Armentano, Antonio	20	Chessa, Giannina	1
Assaretti, Antonio	1	Chiappini, Pietroluigi	8
Augello, Antonio M.G.	40	Chiaravalle, A. Eugenio	39
Badiani, Anna	25	Chiesa, Francesco	9,12,37,40
Baiocchi, Claudio	23	Chiesa, Luca Maria	2
Baioni, Elisa	17	Cianti, Luca	19
Balestrieri, Marco	37	Cicaleni, Gabriela	29
Balzan, Stefania	38	Ciccarelli, Cesare	2
Balzaretti, Claudia	2,5,19,41	Ciccarelli, Elena	2
Barcucci, Elisa	39	Civera, Tiziana	9,12,37
Bardasi, Lia	27	Colagiorgi, Angelo	30
Barisonzo, Marco	20	Colavita, Giampaolo	5
Barrasso, Roberta	11	Collarino, Salvatore	4
Bencardino, Daniela	38	Colmegna, Silvia	24
Benevenia, Roberto	34	Conti, Cecilia	19
Benvenuto, Elisa	17	Cornacchia, Alessandra	16
Bernardi, Cristian	8,10	Corradi, Margherita	7
Bertasi, Barbara	24,34	Corradini, Annafrancesca	8
Bertoletti, Irene	24	Corte, Giovanni	20
Besozzi, Martina	8	Corti, Ivan	2,25
Bianchi, Daniela Manila	4,39	Cosciani Cunico, Elena	26
Bianco, Angelica	11,15	Costa, Antonella	15
Bignami, Giorgia	1	Costantini, Berardina	31
Blasi, Giuliana	36	Costanzo, Francesco	40
Boggio, Federica	5	Cottini, Andrea	8
Bommaci, Mattia	40	Cotturone, Giuseppe	31
Bonardi, Silvia	7	Cristiano, Daniela	37
Bonerba, Elisabetta	14	Cuteri, Vincenzo	31
Bonilauri, Paolo	26,27	D'Alterio, Nicola	16
Borghi, Mara	29	D'Angelantonio, Daniela	31
Borrello, Silvio	30	D'Errico, Valeria	4
Boscarelli, Francesco	37	Dalla Villa, Paolo	31
Boteva, Cvetelina	17	Dalzini, Elena	27
Bozzetta, Elena	23	Dambrosio, Angela	41
Bozzo, Giancarlo	11	Daminelli, Paolo	26,27
Branciarri, Raffaella	9	De Cesare, Alessandra	11,14
Brunello, Linda	40	De Paulis, Francesca	31
Bruno, Rosanna	4,37	De Santis, Enrico Pietro Luigi	7,16
Bucciarelli, Tonino	20	De Somma, Donatella	4
Bulzacchelli, Amelia	15	De Stefano, Luca	37
		Decastelli, Lucia	4,39
		Del Matto, Ilaria	32
		Delogu, Alida	34

Demartini, Eugenio	8	Giorgi, Ilaria	4
Demontis, Mariella	7,16	Giuffrida, Alessandro	3
Di Ciccio, Pierluigi Aldo	30	Giuggioli, Germana	40
Di Donato, Guido	28	Giusti, Alice	24
Di Giacomo, Loredana	29,41	Gogliettino, Marta	37
Di Giannatale, Elisabetta	28,33,35	Grassi, Ausilia	37,40
di Leo, Genni	16	Grisenti, Silvia	26,27
Di Marzio, Violeta	16,32,33	Guardone, Lisa	24
Di Nicola, Umberto	13	Guidi, Alessandra	19,24
Di Nino, Oremo	31	Guidi, Emanuele	5
Di Pietro, Vanessa	8	Guidi, Fabrizia	36
Di Pinto, Angela	18	Haouet, Nacer	9
Di Serafino, Gabriella	27,28,33,35	Ianieri, Adriana	25,30
Di Trani, Vittoria	2	Iannello, Francesco	37
Diaferia, Nunzia	20	Iannetti, Luigi	31,32
Difato, Laura Maria	14	Iannitto, Giorgio	32
Disanto, Chiara	34,41	Intini, Nicola	20
Epifanio, Ersilia Maria	25	Iriti, Marcello	12
Fadda, Antonio	7,23,34	La Ginestra, Rosa	5
Fasolato, Luca	31,38	La Rosa, Giovanni	21
Felicioli, Antonio	15	Lanfranchi, Paolo	8
Ferrante, Maria Carmela	16	Latini, Mario	25
Ferraresso, Jacopo	31	Latorre, Laura	14,15
Ferrari, Angelo	23	Lattanzi, Anna	34
Ferrero, Elena	17	Leboffe, Loris	16
Ferrero, Irene	17	Leinoudi, Melina	2
Ferretti, Ezio	29	Leonetti, Egidio	20
Ferrieri, Francesca	20	Liuzzo, Gaetano	3
Festa, Rossella	37	Livini, Francesco	29
Festino, Anna Rita	20	Lo Greco, Francesco	20
Fichera, Sandro	29	Lollai, Stefano	7
Filipello, Virginia	34	Lombardo, Dorotea	29
Finazzi, Guido	24	Longhi, Simona	7
Fiori, Gianuario	1	Lorito, Luna	1
Fontana, Federico	38	Loschi, Anna Rita	25,41
Fontanella, Edoardo	12	Losio, Marina Nadia	24,34
Fraccalvieri, Rosa	14	Losito, Francesca	16
Fragassi, Sandra	39	Lucchi, Alex	11,14
Francini, Giorgia	10	Magnani, Luca	23
Frustoli, Angela	26,27	Maida, Ivana	23
Galbo, Giorgia	40	Maisano, Antonio Marco	30
Gallina, Silvia	17,39	Malandra, Renato	25
Gallottini, Claudio	20	Mamusa, Francesca	40
Galuppini, Elisa	34	Mancusi, Andrea	4
Garavaglia, Daniela	10	Manfreda, Gerardo	11,14
Garniga, Maurizio	19	Mangeri, Lucia	34
Garofalo, Francesca	10	Mangiacotti, Michele	39
Gasperetti, Laura	24	Mangieri, Maria Silvia	32
Gaviglio, Anna	8	Mantella, Elisabetta	37
Gazzotti, Teresa	18	Mara, Laura	23,34
Gentili, Andrea	20	Marchesani, Giuliana	39
Gentili, Valentina	29	Marello, Ferruccio	21
Ghelli, Elisa	18	Marfaglia, Cristina	16,33
Ghidini, Sergio	25,30	Marilungo, Luigi	29
Giacometti, Federica	3	Marino, Lucio	32
Giacomini, Enrico	30	Marongiu, Aldo	23
Giannico, Anna	15	Marongiu, Edoardo	7
Giarratana, Filippo	3	Marongiu, Laura	34
Gigliotti, Domenico	37	Marotta, Francesca	33
Gilioli, Stefano	7	Marotta, Stefania Maria	3
Giordano, Angela	4	Marri, Nicla	16

Marrone, Raffaele	10,40	Pisegna Orlando, Nicola	31
Martucci, Francesca	17	Piumatti, Maurizio	12
Maurella, Cristiana	17	Piva, Silvia	3
Meistro, Serena	23	Pizzi, Luca	19
Mercogliano, Raffaeline	10,16	Podaliri, Michele	31
Merialdi, Giuseppe	26,27	Pomilio, Francesco	8,16,31,32,33
Miccolupo, Angela	14	Pontalti, Stefano	29
Migliorati, Giacomo	31,33	Porqueddu, Giuseppina	34
Milicevic, Vesna	5	Proroga, Yolande T.R.	4,37
Minola, Lucia	6	Quaglia, Nicoletta Cristiana	34
Mioni, Renzo	30	Quattrone, Andrea	30
Miraglia, Dino	9	Rabini, Michela	29
Mocci, Anna Maria	7,16	Ramini, Mattia	26,27
Mollica, Domenico	4,37	Ranucci, David	9
Morini, Paola	31	Rapesta, Vincenzo	4,37
Mottola, Anna	14	Rapetti, Franco	20
Mulargia, Anna	21	Ratti, Sabrina	5
Murgia, Lorenza	16	Rea, Ilaria	37
Murittu, Gavino	16	Rea, Stefano	29
Murru, Nicoletta	16	Riccardi, Fiammetta	8
Muzzani, Adolfo	4	Ridolfi, Donato	15
Nairi, Mirko	40	Riganatou, Angeliki	29
Natale, Leonardo	21	Rinaldi, Antonio	36
Neri, Diana	33,35	Rizzi, Giuseppe	8
Nobile, Maria	2	Roila, Rossana	9
Noè, Mauro	12	Rolandi, Silvia	3
Novelli, Enrico	38	Romantini, Romina	33,35
Nuvoloni, Roberta	15,28	Ronci, Maurizio	20
Oberkalmsteiner, Evelin	29	Rossi, Ciro	37
Olivastri, Alberto Aldo Maria	28	Rovelli, Giacomo	6
Pagliuca, Giampiero	18	Rubiola, Selene	9
Pala, Carlo	7	Ruggeri, Simonetta	29
Palma, Federica	14	Sabino, Nicola	20
Palma, Mariangela	20	Sacchi, Cristina	24
Palmier, Gianna	37	Sacchini, Lorena	35
Palombo, Barbara	36	Saletti, Maria Antonietta	16
Paludi, Domenico	13,20	Salini, Romolo	16
Panebianco, Antonio	3	Salucci, Stefania	31
Panseri, Sara	2	Salvaneschi, Serena	12
Paolazzi, Gloria	29	Salvatori, Paolo	20
Paparella, Antonello	27,28,36	Salza, Sara	7
Parisciani, Gabriella	28	Sanna, Andrea	1
Parisi, Antonio	11,14,15	Sanna, Dina	21
Pasquale, Elisa	2	Santagada, Gianfranco	14,15
Pasquali, Flavio	29	Santarelli, Gino Angelo	32,33
Pasquali, Frederique	11,14	Santonicola, Serena	16
Patavino, Claudio	36	Santoro, Tiziana	20
Pavoni, Enrico	24	Santoru, Angela	16
Pedonese, Francesca	15	Sasso, Mariarosaria	12
Pennisi, Luca	13	Savarino, Alessandra	18
Perilli, Margherita	33	Scalfi, Fausto	30
Perri, Marina	5	Scaltriti, Erika	7
Peruzy, Maria Francesca	10	Scappaticci, Folco	13
Petrone, Domenico	32	Scarano, Christian	7,16
Pezzolato, Marzia	23	Schirone, Maria	27,28,32,36
Pia, Federico	7	Scialla, Roberto	40
Piccirillo, Alessandra	31	Scorcia, Chiara	4,39
Piersimoni, Lorenzo	37	Scotti, Luca	20
Pinna, Giuliano	16	Semeraro, Angela Marisa	2
Piras, Francesca	7,16	Serraino, Andrea	3
Piras, Pierluigi	1	Serratore, Patrizia	1

Sirri, Federico	18	Trimarchi, Donata	30
Smaldone, Giorgio	10	Trombetti, Noemi	21
Soncin, Vilma	4	Tucci, Patrizia	33
Spanu, Carlo	7,16	Turchi, Barbara	15
Sperandii, Anna Franca	33	Ubaldi, Paolo	23
Staccini, Rita	9	Uda, Maria Teresa	7,23
Staffolani, Monica	36	Vallone, Lisa	6,12
Stella, Simone	8,10	Varrà, Maria Olga	25,30
Stocchi, Roberta	31,41	Vedovato, Loredana	29
Sulli, Nadia	31	Verani, Giada	15
Susini, Francesca	24	Vergara, Alberto	13
Taddei, Roberta	26	Viganò, Roberto	8
Tantillo, Giuseppina	11,18	Viganò, Valeria	10
Tedde, Tiziana	7,23	Virgilio, Sebastiano	7,23,34
Tedesco, Doriana	19,41	Visciano, Pierina	27,28,36
Terio, Valentina	18	Vitali, Luca Agostino	38
Terrosu, Giovanni	34	Vollano, Lucia	10
Testa, Alessandro	37	Zanardi, Emanuela	25,30
Tieri, Elga	16	Zanardi, Giorgio	34
Tinacci, Lara	19	Zanet, Stefania	9
Tirloni, Erica	8,10	Zavatta, Emanuele	1
Tondo, Maria Teresa	18	Ziino, Graziella	3
Torracca, Beatrice	15	Zilli, Katuscia	28
Torresi, Marina	32,36	Zironi, Elisa	18
Totò, Chiara	41	Zorzi, Mattia Giuseppe	30
Traversa, Amaranta	17	Zottola, Tiziana	40
Trevisani, Marcello	14	Zuccon, Fabio	4

EDITORIAL STAFF

Emanuela Fusinato, Journal Manager
emanuela.fusinato@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
info@pagepress.org

TIPOGRAFIA

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

Stampato: agosto 2018.

SI RINGRAZIANO

