

2014 • Vol. 3 • Suppl. 1

ISSN: 2239-7132



**AIVI**  
Associazione  
Italiana  
Veterinari  
Igienisti

# Italian Journal of Food Safety

Editor-in-Chief:  
Andrea Serraino



**XXIV Convegno Nazionale dell'Associazione Italiana Veterinari Igienisti**  
**Nuove frontiere della sicurezza alimentare**  
Bologna, 10 - 12 settembre 2014

 **pagepress**

## Editor-in-Chief

Andrea Serraino, *Università di Bologna, Italy*

## Vice Editor-in-Chief

Giampiero Pagliuca, *Università di Bologna, Italy*

## Section Editors

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

Maria Teresa Bottero, *Università di Torino, Italy*

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

Federica Giacometti, *Università di Bologna, Italy*

Gaetano Liuzzo, *Servizio Veterinario A.S.L. di Modena, Italy*

Rina Mazzette, *Università di Sassari, Italy*

Enrico Novelli, *Università di Padova, Italy*

Giampiero Pagliuca, *Università di Bologna, Italy*

Andrea Serraino, *Università di Bologna, Italy*

## Editorial Board

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

Cristina Bacci, *Università di Parma, Italy*

Maria Teresa Bottero, *Università di Torino, Italy*

Franco Brindani, *Università di Parma, Italy*

Edmondo Ceci, *Università di Bari, Italy*

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

Tiziana Civera, *Università di Torino, Italy*

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

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

Teresa Gazzotti, *Università di Bologna, Italy*

Federica Giacometti, *Università di Bologna, Italy*

Luca Guardabassi, *Università di Copenhagen, Denmark*

Gaetano Liuzzo, *Servizio Veterinario A.S.L. di Modena, Italy*

Rina Mazzette, *Università di Sassari, Italy*

Enrico Novelli, *Università di Padova, Italy*

Giampiero Pagliuca, *Università di Bologna, Italy*

Pierluigi Piras, *Università di Sassari, Italy*

Stefano Rea, *Università di Camerino, Italy*

Roberto Rosmini, *Università di Bologna, Italy*

Giuseppina Marilia Tantillo, *Università di Bari, Italy*

Vittorio Zambrini, *Granarolo S.p.A., Italy*

## EDITORIAL STAFF

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

Selvaggia Stefanelli, Marketing Manager  
[marketing@pagepress.org](mailto:marketing@pagepress.org)

Claudia Castellano, Production Editor  
Cristiana Poggi, Production Editor

Tiziano Taccini, Technical Support

## PUBLISHED BY

PAGEPress Publications  
via G. Belli 7  
27100 Pavia, Italy  
T. +39.0382.1751762  
F: +39.0382.1750481



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

ISSN 2239-7132

## TIPOGRAFIA

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

## ITALIAN JOURNAL OF FOOD SAFETY

Tutti gli articoli pubblicati su *Italian Journal of Food Safety* sono redatti sotto la responsabilità degli Autori. La pubblicazione o la ristampa degli articoli della rivista deve essere autorizzata per iscritto dall'editore. Ai sensi dell'art. 13 del D.Lgs 196/03, i dati di tutti i lettori saranno trattati sia manualmente, sia con strumenti informatici e saranno utilizzati per l'invio di questa e di altre pubblicazioni e di materiale informativo e promozionale. Le modalità di trattamento saranno conformi a quanto previsto dall'art. 11 del D.Lgs 196/03. I dati potranno essere comunicati a soggetti con i quali PAGEPress intrattiene rapporti contrattuali necessari per l'invio delle copie della rivista. Il titolare del trattamento dei dati è PAGEPress Srl, via Belli 7 - 27100 Pavia, al quale il lettore si potrà rivolgere per chiedere l'aggiornamento, l'integrazione, la cancellazione e ogni altra operazione di cui all'art. 7 del D.Lgs 196/03.

Stampato: Settembre 2014.

## Comitato Scientifico AIVI

Aniello Anastasio, *Università di Napoli Federico II, Italy*  
Franco Brindani, *Università di Parma, Italy*  
Gaetano Celano, *Università di Bari, Italy*  
Tiziana Civera, *Università di Torino, Italy*  
Maria Luisa Cortesi, *Università di Napoli Federico II, Italy*  
Beniamino Terzo Cenci Goga, *Università di Perugia, Italy*  
Lucia Decastelli, *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del  
Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, Italy*  
Giuseppina Marilia Tantillo, *Università di Bari, Italy*  
Daniela Gianfaldoni, *Università di Pisa, Italy*  
Alessandro Giuffrida, *Università di Messina, Italy*  
Adriana Ianieri, *Università di Parma, Italy*  
Domenico Mollica, *Servizio Veterinario A.S.L. di Sorrento, Italy*  
Giuseppe Palma, *Assoittica, Italy*  
Antonio Panebianco, *Università di Messina, Italy*  
Rita Pasquarelli, *Unione Nazionale Avicoltura, Italy*  
Roberto Rosmini, *Università di Bologna, Italy*  
Enrico Pietro Luigi De Santis, *Università di Sassari, Italy*  
Luca Cianti, *Servizio Veterinario A.S.L. di Firenze, Italy*  
Stefano Bilei, *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e  
della Toscana, Italy*

## Presidente

Tiziana Civera, *Università di Torino, Italy*

## Vicepresidente

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

## Revisori dei conti

Alendra Guidi, *Università di Pisa, Italy*  
Marco Boccetti, *Socio Onorario, Italy*  
Roberto Macrì, *Servizio Veterinario Regione Calabria, Italy*

## Collegio dei probiviri

Giovanni Munaò, *Servizio Veterinario A.S.L. di Firenze, Italy*  
Claudia Balzaretto, *Università di Milano, Italy*  
Francesco Leone, *Servizio Veterinario A.S.L. di Latina, Italy*

## Delegati regionali

*Calabria:* Roberto Macrì, Raffaele Grillone  
*Campania:* Maria Luisa Cortesi, Domenico Mollica  
*Lombardia:* Lisa Vallone, Claudia Balzaretto  
*Piemonte:* Claudio Biglia, Lucia Decastelli, Tiziana Civera  
*Emilia Romagna:* Roberto Rosmini, Antonio Poeta,  
Gaetano Liuzzo, Franco Brindani  
*Marche:* Annarita Loschi, Loredana Di Giacomo  
*Toscana:* Daniela Gianfaldoni, Luca Cianti, Giovanni Munaò  
*Umbria:* Beniamino Genci Goga  
*Molise:* Giampaolo Colavita  
*Sardegna:* Enrico Pietro Luigi De Santis, Pierluigi Piras,  
Sebastiano Virgilio  
*Lazio:* Giuseppe Palma, Francesco Leone  
*Puglia:* Gaetano Celano, Leonardo Carosielli  
*Sicilia:* Antonio Giuliano, Francesco Pecoraro

# XXIV Convegno Nazionale dell'Associazione Italiana Veterinari Igienisti

## NUOVE FRONTIERE DELLA SICUREZZA ALIMENTARE

**Bologna, 10-12 Settembre 2014**

### COMITATO ORGANIZZATORE

Sabrina Albonetti, *Università di Bologna, Italy*

Loretta Antoni, *Università di Bologna, Italy*

Matilde Cecchini, *Università di Bologna, Italy*

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

Teresa Gazzotti, *Università di Bologna, Italy*

Federica Giacometti, *Università di Bologna, Italy*

Gaetano Liuzzo, *Servizio Veterinario A.S.L. di Modena, Italy*

Marina Nadia Losio, *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia, Italy*

Gerardo Manfreda, *Università di Bologna, Italy*

Giuseppe Merialdi, *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Bologna, Italy*

Giampiero Pagliuca, *Università di Bologna, Italy*

Roberto Rosmini, *Università di Bologna, Italy*

Andrea Serraino, *Università di Bologna, Italy*

Patrizia Serratore, *Università di Bologna, Italy*

Gabriele Squintani, *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Bologna, Italy*

Marcello Trevisani, *Università di Bologna, Italy*

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

Elisa Zironi, *Università di Bologna, Italy*

Con il patrocinio di



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



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



PROVINCIA DI  
BOLOGNA



COMUNE DI BOLOGNA



MED  
& FOOD  
Control and  
Quality Systems

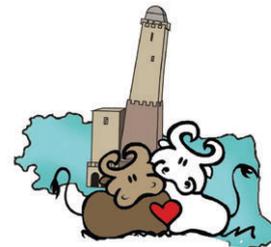
Si ringraziano



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE VETERINARIE



FOOD TREND  
FOUNDATION



## XXIV Convegno Nazionale dell'Associazione Italiana Veterinari Igienisti

## NUOVE FRONTIERE DELLA SICUREZZA ALIMENTARE

Bologna, 10-12 Settembre 2014

## INDICE

## Mercoledì 10 settembre

## International Workshop: Trends in Food Safety

<b>W01</b> Sanitary importance of <i>Arcobacter</i> in the food production chain . . . . .	1
<i>M.J. Figueras</i>	
<b>W02</b> Revolution in analytical approaches dedicated to chemical food safety . . . . .	1
<i>B. Le Bizec, J.-P. Antignac, E. Bichon, S. Prévost, P. Marchand, S. Chéreau, H. Gallart-Ayala, F. Monteau, G. Pinel-Dervilly</i>	
<b>W03</b> Paratubercolosi: un problema di sicurezza alimentare? Applicazione delle Linee Guida per l'adozione dei piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della paratubercolosi bovina . . . . .	1
<i>N. Arrigoni</i>	
<b>W04</b> Criteri microbiologici e obiettivi di sicurezza alimentare: quali prospettive? . . . . .	2
<i>G. Manfreda, A. De Cesare</i>	

## Comunicazioni scientifiche

<b>C01</b> Impiego dell'isotiocianato di allile per il prolungamento della <i>shelf life</i> di filetti di orata ( <i>Sparus aurata</i> ). . . . .	3
<i>F. Giarratana, C. Crinò, D. Muscolino, C. Beninati, G. Ziino, A. Giuffrida, A. Panebianco</i>	
<b>C02</b> Frodi per sostituzione di specie in prodotti della pesca preparati in Italia meridionale . . . . .	3
<i>P. Marchetti, V. Terio, M. Bottaro, A. Mottola, E. Bonerba, G. Bozzo, G. Tantillo, A. Di Pinto</i>	
<b>C03</b> Valutazione e comparazione di quattro protocolli di estrazione proteica per elettroforesi mono e bidimensionale in <i>Mytilus galloprovincialis</i> . . . . .	3
<i>M. Ceruso, C. Chirillo, F. Boccia, G. Smaldone, R. Marrone, T. Pepe</i>	
<b>C04</b> Utilizzo del DNA <i>barcoding</i> per il controllo di specie del genere <i>Octopus</i> . . . . .	4
<i>F. Debenedetti, A. Dalmaso, M.T. Bottero, M. Gilli, S. Gili, V. Tepedino, T. Civera</i>	
<b>C05</b> Presenza di residui di monossido di carbonio in filetoni di tonno ( <i>Thunnus albacares</i> ) confezionati sottovuoto . . . . .	4
<i>R. Marrone, C. Mascolo, G. Palma, G. Smaldone, M. Girasole, A. Anastasio</i>	
<b>C06</b> Analisi chimiche e microbiologiche in gasteropodi ( <i>Helix aspersa maxima</i> e <i>Helix aspersa muller</i> ) commercializzati in Sicilia . . . . .	4
<i>A. Cicero, G. Giangrosso, G. Cammilleri, A. Macaluso, V. Currò, L. Galuppo, D. Vargetto, D. Vicari, V. Ferrantelli</i>	
<b>C07</b> I nematodi della famiglia Anisakidae come <i>marker</i> di rintracciabilità dei prodotti ittici . . . . .	5
<i>V. Ferrantelli, A. Costa, S. Graci, M.D. Buscemi, G. Giangrosso, C. Porcarello, S. Palumbo, G. Cammilleri</i>	

<b>C08</b> Ricerca di <i>Arcobacter</i> spp. in campioni di <i>Mytilus galloprovincialis</i> commercializzati nella regione Puglia . . . . .	5
<i>E. Bonerba, A. Mottola, A. Parisi, A. Di Pinto, A. Serraino, G. Bozzo, F. Giacometti, E. Ceci, G. Tantillo</i>	
<b>C09</b> Rilevamento e caratterizzazione di ceppi produttori d'istamina della specie <i>Photobacterium damselae</i> ssp. <i>damselae</i> isolati da Mugilidi . . .	5
<i>M. Trevisani, C. Costanza, R. Mancusi, M. Cecchini, M. Prearo</i>	
<b>C10</b> La speciazione dell'arsenico nei prodotti della pesca come prerequisito per un corretto <i>risk assessment</i> : studio preliminare in un ambiente costiero (laguna di Boi Cerbus) della Sardegna sud-occidentale (Sulcis-Iglesiente) . . . . .	6
<i>P. Piras, R. Orletti, G. Chessa, C. Carloni, F. Griffoni, P. Palombo, F. Velieri</i>	
<b>C11</b> Caratteristiche microbiologiche delle paste artigianali e industriali vendute nella provincia di Benevento . . . . .	6
<i>V. Ricci, L. Petrella, F. Barone</i>	
<b>C12</b> Qualità nutrizionale di una preparazione a base di Döner kebab commercializzata in due città del Veneto . . . . .	6
<i>M. Panozzo, L. Magro, I. Erle, S. Ferrarini, R. Murari, E. Novelli, S. Masaro</i>	
<b>C13</b> Impiego di acido ascorbico come additivo alimentare e problematiche tecnico-giuridiche . . . . .	7
<i>M. Varvara, G. Bozzo, C. Disanto, C.N. Pagliarone, G.V. Celano</i>	

## Giovedì 11 settembre

---

### Tavola Rotonda: Sanità animale, sicurezza alimentare e modernizzazione dell'ispezione

<b>T01</b> Indicatori del benessere degli animali presentati al macello: lo stato di pulizia in relazione allo stato microbiologico delle carcasse . . .	7
<i>G. Liuzzo</i>	
<b>T02</b> Il sistema di valutazione CRENBA per il benessere e la biosicurezza nell'allevamento bovino . . . . .	8
<i>L. Bertocchi, F. Fusi</i>	
<b>T03</b> Modernizzazione del sistema ispettivo delle carni suine: importanza delle informazioni sulla catena alimentare . . . . .	8
<i>A.R. Loschi</i>	
<b>T04</b> Nuovi scenari per la molluschicoltura italiana: implicazioni di sanità animale e sicurezza alimentare . . . . .	9
<i>G. Arcangeli</i>	
<b>T05</b> Indicatori di benessere e modernizzazione dell'ispezione nel settore avicolo . . . . .	9
<i>P. Gaspari</i>	

### Comunicazioni scientifiche

<b>C14</b> Ottimizzazione dei parametri elettrici di stordimento per il miglioramento delle condizioni di benessere degli animali in un macello avicolo . . .	10
<i>M. Girasole, C. Chirollo, M. Ceruso, L. Vollano, A. Chianese, M.L. Cortesi</i>	
<b>C15</b> Valutazione delle caratteristiche igieniche di carcasse di ovini adulti sottoposti a spellatura assistita da insufflazione d'aria. . . . .	10
<i>D. Ranucci, R. Branciarri, D. Miraglia, R. Stocchi, S. Rea, A.R. Loschi</i>	
<b>C16</b> Ricerca di <i>Yersinia enterocolitica</i> in suini al macello mediante tecniche colturali e <i>real time PCR</i> . . . . .	10
<i>R. Mazzette, F. Fois, S.G. Consolati, S. Salza, T. Tedde, P. Soro, C. Collu, D. Ladu, S. Virgilio, F. Piras</i>	
<b>C17</b> Prevalenza di <i>Salmonella</i> in relazione ai parametri di igiene di processo in suini al macello e ambienti di macellazione. . . . .	11
<i>F. Piras, F. Fois, R. Mazza, M. Putzolu, M.L. Delogu, P.G. Lochi, S.P. Pani, R. Mazzette</i>	
<b>C18</b> Il nuovo destino e la possibilità d'impiego delle carni provenienti da macellazione d'urgenza. . . . .	11
<i>L.A. Carosielli, A. Rosamilia, M.R. Micheli</i>	
<b>C19</b> Abbattimento della contaminazione da <i>Listeria innocua</i> in prosciutto, pancetta e salame confezionati sottovuoto tramite trattamento con alte pressioni idrostatiche . . . . .	11
<i>G. Meriardi, M. Ramini, E. Ravanetti, G. Gherri, P. Bonilauri</i>	
<b>C20</b> Studio di <i>shelf life</i> di due insaccati crudi altoatesini confezionati sottovuoto . . . . .	12
<i>M. Armani, M. Rabini, E. Oberkalmsteiner, A. Gallina, M. Fill, K. Leggeri, D. Lombardo</i>	

## Venerdì 12 settembre

<b>C21</b> RELAZIONE AD INVITO - Basi scientifiche della sicurezza alimentare del Parmigiano Reggiano . . . . .	13
<i>M. Nocetti, V. Pizzamiglio, E. Cosciani-Cunico, P. Daminelli</i>	
<b>Comunicazioni scientifiche</b>	
<b>C22</b> Qualità microbiologica di formaggi freschi italiani artigianali ottenuti da latte non pastorizzato . . . . .	13
<i>E. Tirioni, S. Stella, C. Bernardi</i>	
<b>C23</b> Indagine sulla presenza di <i>Listeria monocytogenes</i> in campioni ambientali prelevati in caseifici della provincia di Sassari . . . . .	13
<i>G. Terrosu, A. Fadda, G. Frongia, A. Sanna, R. Melillo, A. Fadda</i>	
<b>C24</b> Cambiamenti microbiologici e chimico-fisici durante il processo produttivo di un formaggio italiano prodotto con latte crudo di capra . . . . .	14
<i>E. Dalzini, E. Cosciani-Cunico, C. Sfameni, P. Monastero, P. Daminelli, M.N. Losio, G. Varisco</i>	
<b>C25</b> Comportamento di <i>Listeria monocytogenes</i> ed <i>Escherichia coli</i> O157:H7 durante la caseificazione e la stagionatura di formaggi a latte crudo tipici delle Alpi italiane . . . . .	14
<i>E. Cosciani-Cunico, E. Dalzini, S. Ducoli, C. Sfameni, B. Bertasi, M.N. Losio, P. Daminelli, V. Varisco</i>	
<b>C26</b> Valutazione quantitativa del rischio di sopravvivenza di <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> nel latte pastorizzato in tre stabilimenti lattiero-caseari in Italia. . . . .	14
<i>P. Bonilauri, A. Serraino, N. Arrigoni, F. Ostanello, M. Ricchi, F. Giacometti</i>	
<b>C27</b> Analisi comparativa di profili di tipizzazione di ceppi di <i>Salmonella enterica</i> sierotipo <i>Enteritidis</i> ottenuti mediante <i>MLVA</i> , <i>PFGE</i> e ribotipizzazione automatica . . . . .	15
<i>A. De Cesare, A. Parisi, A. Lucchi, A. Miccolupo, F. Palma, A. Ricci, G. Manfreda</i>	
<b>C28</b> Il formaggio Maiorchino: specificità fisico-chimiche ed igienico-sanitarie . . . . .	15
<i>F. Conte, A. Ravidà, A. Mandanici, V. Ferrantelli, M. Chetta, A. Verzera</i>	
<b>C29</b> Effetto di colture <i>starter</i> selezionate di origine lattiero-casearia e di probiotici sulle caratteristiche microbiologiche, chimiche e sensoriali di salami . . . . .	16
<i>P. Sechi, M.F. Iulietto, S. Mattei, S. Novelli, G. Traina, M. Codini, B.T. Cenci-Goga</i>	
<b>C30</b> Attività <i>in vitro</i> di una formulazione di batteri lattici di origine lattiero-casearia e probiotici nei confronti di batteri patogeni selezionati. . . . .	16
<i>P. Sechi, M.F. Iulietto, S. Mattei, S. Novelli, G. Traina, M. Codini, B.T. Cenci-Goga</i>	
<b>C31</b> Monitoraggio del contenuto di Aflatossina M1 nel latte di pecora e di capra in Sardegna (2005-2013) . . . . .	17
<i>S. Viridis, C. Scarano, V. Spanu, G. Murittu, C. Spanu, I. Ibba, E.P.L. De Santis</i>	
<b>C32</b> Uso dell'indagine elastosonografica per valutare le modifiche della mozzarella di bufala campana DOP durante la conservazione a differenti temperature . . . . .	17
<i>N. Costanzo, A.M.L. Santoro, E. Sarno, A. Di Loria, R.D. Grembiale, D. Britti, F. Capuano</i>	
<b>C33</b> Ricerca di geni codificanti enterotossine in ceppi di <i>Staphylococcus aureus</i> isolati da latte e derivati . . . . .	17
<i>G. Macori, F. Chiesa, A. Bellio, D.M. Bianchi, S. Gallina, D. Adriano, T. Civera, L. Decastelli</i>	
<b>C34</b> Ricerca del virus dell'Epatite A in ribes rossi ( <i>Ribes rubrum</i> ) . . . . .	18
<i>V. Terio, M. Bottaro, A. Mottola, P. Marchetti, E. Bonerba, G. Bozzo, A. Di Pinto</i>	
<b>C35</b> Il <i>challenge test</i> microbiologico per <i>Listeria monocytogenes</i> in alimenti pronti al consumo: un approccio pratico. . . . .	18
<i>C. Spanu, C. Scarano, M. Ibba, C. Pala, V. Spanu, E.P.L. De Santis</i>	
<b>C36</b> Ricerca di <i>Norovirus</i> in alimenti prelevati su navi da crociera del Mediterraneo . . . . .	18
<i>E. Sarno, N. Costanzo, A. Supino Di Lorenzo, O. Di Maro, Y.T.R. Proroga, A.M.L. Santoro</i>	
<b>C37</b> Tini in legno utilizzati per la produzione di formaggi tradizionali siciliani: indagine microbiologica e sicurezza alimentare. . . . .	19
<i>M.L. Scatassa, C. Cardamone, V. Miraglia, F. Lazzara, G. Fiorenza, G. Macaluso, L. Arcuri, L. Settanni, I. Mancuso</i>	
<b>C38</b> Regolamento Comunitario N.ro 1099/2009: stato dell'arte ed applicazione in una Azienda Sanitaria Locale del Piemonte . . . . .	19
<i>G. Paolucci, D. Cagnasso, F. Cassani, D. Pattono</i>	

<b>C39</b> Regione Lazio: prevalenza e caratterizzazione molecolare di <i>Escherichia coli</i> produttori di shiga tossine in formaggi a latte crudo. . . . .	19
<i>S. Marozzi, P. De Santis, S. Lovari, L. Scaramella, R. Condoleo, C. Sanpieri, S. Pecchi, V. De Angelis, V. Belardo, P. Palmieri, I. Di Domenico, S. Bilei, R. Marciànò, Z. Mezher</i>	
<b>C40</b> Evoluzione del <i>challenge test</i> integrato: ottimizzazione dei costi e dei tempi analitici. . . . .	20
<i>S. Colombo, M. Romani, C. Romani</i>	
<b>C41</b> Metodiche di biologia molecolare per l'identificazione di specie in prodotti alimentari: applicazione di metodi basati su protocolli internazionali e verifica di approcci quantitativi . . . . .	20
<i>B. Bertasi, M. Tilola, M. Malanga, D. De Medici, E. Delibato, S. Bilei, P. De Santis, S. Lovari, P.L. Acutis, P. Modesto, S. Peletto, M.N. Losio</i>	
<b>C42</b> Valutazioni preliminari all'adozione di un sistema di riconoscimento della classificazione ( <i>grading</i> ) in base a criteri igienico-sanitari dei pubblici esercizi nella città di Milano . . . . .	21
<i>K. Razzini, C.M. Balzaretto</i>	
<b>C43</b> Contaminazione da radionuclidi beta emittenti (90Sr) nei mangimi: validazione ed applicazione di un metodo radiochimico mediante conteggio in scintillazione liquida ad ultra basso fondo. . . . .	21
<i>M. Iammarino, D. Dell'Oro, N. Bortone, A.E. Chiaravalle</i>	
<b>C44</b> Sviluppo di colture batteriche autoctone con attitudine casearia e competitiva nei confronti di patogeni per la valorizzazione dei prodotti caseari d'alpeggio: applicazioni in campo . . . . .	21
<i>S. Paternolli, I. Pedrolli, G. Paolazzi, S. Rodas, C. Andrighetto, A. Lombardi, R. Lucchini R.</i>	
<b>C45</b> La percezione del rischio da parte del consumatore in materia di sicurezza alimentare: livello di conoscenza emerso attraverso il portale web IZSalimento . . . . .	22
<i>A. Traversa, D.M. Bianchi, S. Astegiano, A. Barbaro, C. Bona, E. Baioni, F. Rubinetti, E. Aliberti, C. Palazzo, S. Gallina, L. Decastelli</i>	
<b>C46</b> Latte pastorizzato in due caseifici aziendali: valutazione dell'igiene di processo e della stabilità microbiologica quando confezionato in bottiglie di vetro e plastica . . . . .	22
<i>S. Astegiano, A. Bellio, G.R. Gariano, A. Parisi, D.M. Bianchi, S. Gallina, M. Gramaglia, F. Zuccon, L. Battaglini, G. Lombardi, L. Decastelli</i>	
<b>C47</b> La catena del freddo in ambito domestico: un'indagine esplorativa sul comportamento del consumatore . . . . .	23
<i>S. Balzan, L. Fasolato, B. Cardazzo, G. Berti, E. Novelli</i>	
<b>C48</b> Valutazione di tecnologie innovative per il miglioramento della qualità e salubrità delle uova da consumo: trattamento con ultravioletti e confezionamento in atmosfera protettiva. . . . .	23
<i>F. Pasquali, P. Rocculi, F. Bovo, P. Olivi, A. Lucchi, A. Meluzzi</i>	
<b>C49</b> L'esame ispettivo degli alimenti come strumento di valutazione delle segnalazioni dei cittadini: casi reali e suggestioni . . . . .	24
<i>D. Accurso, A. Cannavacciuolo, G. Fedrizzi</i>	
<b>Sessione Poster</b>	
<b>P01</b> Variazione temporale dell'eliminazione fecale di <i>Escherichia coli</i> O157:H7 in un allevamento di bovine da latte autorizzato alla vendita di latte crudo. . . . .	24
<i>G. Meriardi, L. Bardasi, L. Stancampiano, R. Taddei, M. Delogu, A. Di Francesco, I. Guarniero, E. Grilli, M. Fustini, E. Bonfante, F. Giacometti, A. Serraino</i>	
<b>P02</b> Determinazione, mediante il teorema di Bayes, della probabilità con cui può verificarsi la contaminazione fecale delle vongole ( <i>Chamelea gallina</i> ) raccolte nel distretto di San Benedetto del Tronto . . . . .	24
<i>C. Ciccarelli, A.M. Semeraro, V. Di Trani, A. Aliventi, P. Capocasa, S. Murru</i>	
<b>P03</b> Analisi di impurità solide in prodotti alimentari mediante metodo <i>light filth test</i> : risultati 2012-2013 . . . . .	25
<i>M.G. Tilocca, B. Vodret, M.R. Mancuso, A. Zimmaridi, C. Manno, M.R. Schiavo</i>	
<b>P04</b> Influenza dello stress acuto da maneggiamento su alcuni parametri ematici nell'orata ( <i>Sparus aurata</i> Linnaeus, 1758) di allevamento. . . . .	25
<i>F. Fazio, V. Ferrantelli, G. Fortino, F. Arfuso, G. Giangrosso, C. Faggio</i>	
<b>P05</b> Primo riscontro di positività per yessotossine in mitili allevati e commercializzati in Sardegna nel 2013. . . . .	25
<i>A. Mudadu, G. Tedde, G. Lorenzoni, I. Arras, G. Sanna, R. Bazzardi, A. Canu, M.T. Uda, C. Santucci, E. Marongiu, S. Virgilio</i>	
<b>P06</b> Indagine sulla presenza di <i>Anisakis</i> spp. in acciughe pescate nel Mar Ligure. . . . .	26
<i>L. Serracca, R. Battistini, I. Rossini, A. Terarolli, M. Corsi, M. Prearo, C. Ercolini</i>	

<b>P07</b> Caratteristiche qualitative e di composizione di mazzancolle tropicali ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) surgelate di due diverse provenienze. . . . .	26
<i>E. Tirloni, C. Bernardi, P. Cattaneo</i>	
<b>P08</b> La ricerca di corpi estranei in funghi secchi commercializzati in Italia mediante applicazione del <i>filth test</i> . . . . .	27
<i>M.R. Schiavo, C. Manno, A. Zimardi, B. Vodret, M.G. Tilocca, S. Altissimi, M.N. Haouet</i>	
<b>P09</b> Su due episodi di Listeriosi gravida e neonatale: indagini, criticità e riflessioni . . . . .	27
<i>S. Marozzi, M.G. Marocco, R. Tolli, S. Bilei, P.P. Boria, L. De Santis, E. Dell'Aira, S. Colonna, G. Migli, D. Ricci, C. Rossi, C. Bossù</i>	
<b>P10</b> Ricerca di <i>Bacillus cereus</i> e delle sue tossine in ricotte fresche e salate commercializzate in Sardegna . . . . .	27
<i>M.L. Rossi, A.C. Noli, E. Mura, A. Delogu, G. Porqueddu, A. Marongiu, A. Fadda</i>	
<b>P11</b> Minima concentrazione battericida di un estratto fenolico derivato dalle acque di vegetazione del frantoio su un <i>panel</i> di microrganismi di origine alimentare . . . . .	28
<i>L. Fasolato, B. Cardazzo, S. Balzan, L. Carraro, A. Taticchi, F. Montemurro, E. Novelli</i>	
<b>P12</b> Studio di monitoraggio e caratterizzazione molecolare del virus dell'Epatite E in allevamenti suini nella provincia di Brescia. . . . .	28
<i>E. Pavoni, I. Barbieri, B. Bertasi, G. Lombardi, P. Cordioli, M.N. Losio</i>	
<b>P13</b> Utilità dei livelli sierici di amiloide A, aptoglobina, fibrinogeno e sul numero dei globuli bianchi come indicatori dello stress da trasporto in ovini e bovini. . . . .	28
<i>F. Fazio, V. Ferrantelli, A. Cicero, S. Casella, G. Piccione</i>	
<b>P14</b> Analisi di vitamina B12 in prodotti lattiero-caseari mediante cromatografia liquida ad ultra prestazione accoppiata alla spettrometria di massa tandem . . . . .	29
<i>E. Zironi, T. Gazzotti, A. Barbarossa, F. Farabegoli, A. Serraino, G. Pagliuca</i>	
<b>P15</b> Definizione di un protocollo standard applicato ad un <i>challenge test</i> in un prodotto della tradizione abruzzese . . . . .	29
<i>V. Prencipe, A.F. Sperandii, V. Di Marzio, R. Romantini, D. Neri, G.A. Santarelli</i>	
<b>P16</b> Prevalenza di <i>Sarcocystis</i> spp. in carne bovina macinata: studio istologico e molecolare . . . . .	29
<i>S. Meistro, S. Peletto, M. Pezzolato, K. Varello, M. Botta, G. Richelmi, C. Biglia, E. Baioni, P. Modesto, P.L. Acutis, E. Bozzetta</i>	
<b>P17</b> Igiene della macellazione dei suini in strutture annesse alle aziende agrituristiche . . . . .	30
<i>R. Mazzette, F. Piras, V. Agus, G. Porcheddu, G. Fois, S.G. Consolati</i>	
<b>P18</b> Indagine preliminare sulla presenza di metalli tossici e idrocarburi policiclici aromatici in <i>Haliotis tuberculata lamellosa</i> . . . . .	30
<i>S. Longo, C. Copat, M. Ferrante, G. Oliveri Conti, M.V. Brundo, F. Conte</i>	
<b>P19</b> Contaminazione da <i>Listeria monocytogenes</i> del latte crudo al distributore automatico: un case report . . . . .	31
<i>E. Scaltriti, N. Arrigoni, M. Morganti, D. Sassera, G. Cammi, S. Pongolini</i>	
<b>P20</b> Determinazione di virus enterici e <i>Vibrio parahaemolyticus</i> in molluschi bivalvi vivi nella regione Sardegna . . . . .	31
<i>G. Tedde, A. Mudadu, G. Lorenzoni, G. Piras, M.T. Uda, A. Canu, R. Bazzardi</i>	
<b>P21</b> Monitoraggio sulla presenza di <i>Escherichia coli</i> produttori di Verocitotossine nella Regione Emilia Romagna: risultati del Piano Regionale Alimenti 2012-2013. . . . .	32
<i>L. Bardasi, R. Taddei, L. Nocera, M. Ricchi, G. Merialdi</i>	
<b>P22</b> Ricerca di <i>Norovirus</i> e virus dell'Epatite A in alimenti destinati alla ristorazione commerciale e alla ristorazione collettiva nella regione Sardegna . . . . .	32
<i>M.C. Fattaccio, R. Bazzardi, L. Marongiu, S. Salza, A. Canu, L. Uras, M. Pisanu</i>	
<b>Indice degli autori</b> . . . . .	33

## INTERNATIONAL WORKSHOP

Mercoledì 10 settembre

## W01

**Sanitary importance of *Arcobacter* in the food production chain**

Maria José Figueras\*

Unidad de Microbiología, Facultad de Medicina i Ciències de la Salut, Universidad Rovira i Virgili, Reus, Spain

\*Corresponding author: mariajose.figueras@urv.cat

The genus *Arcobacter* was created in 1991 to accommodate 2 aerotolerant *Campylobacter* species and since then has evolved very quickly including at this time 18 species. *Arcobacter* spp. can produce human bacteremia and diarrhea. Studies on different types of food like meat products (chicken, pork, beef, etc.), milk, cheese, shellfish, etc. have shown that in general, *Arcobacter butzleri* is the most prevalent species followed by *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*. This has led to the inclusion of *A. butzleri* in the list of microbes considered a serious hazard to human health by the International Commission on Microbiological Specifications for Foods and to consider this species a significant zoonotic pathogen. Consumption of *Arcobacter*-contaminated food or water is considered the route of transmission to human and animals, but so far no clinical isolate has been matched (genetically) with environmental isolates. However, in an outbreak of recurrent abdominal cramps in an Italian school, all strains recovered from faeces of the infected patients (10 children) had the same phenotype and genotype, indicating a possible common source of infection and/or a person-to-person transmission. So far in 3 waterborne outbreaks *Arcobacter* was recovered either from the drinking water or from the faeces of the patients with diarrhea. A clear correlation between the concentration of faecal bacteria indicators in the water and the presence of *Arcobacter* has been demonstrated. These findings have been corroborated with the persistence of these bacteria in wastewater. *Arcobacters* can resist physical and chemical treatments that can be applied for their control and elimination from food and water. Strains tolerate high sodium chloride concentrations, grow at lower refrigeration temperatures, have the ability to attach to various types of surfaces and are not very susceptible to desiccation. All these characteristics may explain the fate of these microbes in food products. It has been demonstrated that a heat treatment (50°C) followed by cold shock (4 or 8°C) produces a lethal synergistic effect, reducing more *Arcobacter* cells than an individual treatment at 50°C or a cold shock temperature at 12 or 16°C. Other survival studies showed that a proportion of the *Arcobacters* that contaminated the scalding water during the poultry slaughtering process were able to survive at 52°C for 3 min and suggested these as the cause of cross-contamination within and between flocks during processing stages. Recent studies have isolated *Arcobacter* in Italian cheese factories from surfaces in contact with food before and during manufacturing indicating that routine sanitizing procedures in these industrial dairy plants are ineffective for controlling these microbes. These data confirm that the control of these bacteria in the food production chain is relevant for understanding their public health risk.

## W02

**Revolution in analytical approaches dedicated to chemical food safety**

Bruno Le Bizec,\* Jean-Philippe Antignac, Emmanuelle Bichon, Stéphanie Prévost, Philippe Marchand, Sylvain Chéreau, Hector Gallart-Ayala, Fabrice Monteau, Gaud Pinel-Dervilly

Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments, L'Université Nantes Angers Le Mans, Oniris, Nantes, France

\*Corresponding author: bruno.lebizec@oniris-nantes.fr

Food safety is a key element of national and international public health policies and food trade. The potential presence of chemical hazards in foodstuff, either residues of approved substances or environmental contaminants, that may be introduced during food production, processing or packaging, constitutes a subject of prime importance. The exposure to certain chemical hazards, e.g. endocrine disrupters, during particular time windows of the life [women of child-bearing age (and fetus), children...], may generate deleterious health effects with chronic pathologies as observed nowadays at epidemiological scale (hormone-dependant cancers, infertility, pre-puberty...). As a consequence, the monitoring in food of these chemical substances (e.g. authorized or forbidden veterinary drugs, PCBs, dioxins, flame retardants or pesticides) is central in this framework. While till nowadays most analytical strategies have been based on targeted approaches, i.e. consisting in monitoring known compounds, new trends involving untargeted approaches (recording a large set of chemical signals in the sample) have emerged in the field; such non a priori measurement strategy retrospectively allows re-analysing data already recorded (even year after), which allows first discovering new or emerging hazards, but also understanding when it entered into the food chain. Whatever the approach considered (targeted or untargeted) high resolution mass spectrometry (HRMS) – Fourier transform mass spectrometry (FTMS) in particular – is gaining in popularity in the food safety area. New applications consisting in finding and utilizing biomarkers of exposure/effects to declare the (non)compliance of food items are currently under investigation. The analytical strategies leading to the discovery of potential biomarkers are very often based on HRMS approaches for its unique capability to generate exhaustive and accurate information of the corresponding complex biological samples. Both FT-Orbitrap and FT-ICR technologies have recently shown their potential in the food safety domain to generate fingerprints/profiles and to elucidate chemical structures of putative biomarkers. The result of this research is close to official implementation for a couple of applications especially those ambitioning to control the misuse of forbidden pharmaceutical active substances in rearing animals.

## W03

**Paratubercolosi: un problema di sicurezza alimentare? Applicazione delle Linee Guida per l'adozione dei piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della paratubercolosi bovina**

Norma Arrigoni\*

Centro di Referenza Nazionale per la Paratubercolosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Gariga di Podenzano (PC), Italy

\*Corresponding author: norma.arrigoni@izsler.it

La capacità di *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* (MAP),

agente eziologico della paratubercolosi dei ruminanti, di causare malattia nell'uomo è stata ipotizzata da molto tempo in relazione alla malattia di Crohn e, più recentemente, ad altre patologie umane (diabete di tipo I e sclerosi multipla). Ad oggi non è stato stabilito un rapporto causale certo tra MAP e malattia nell'uomo, anche se è stata dimostrata una significativa associazione tra presenza di MAP e patologia umana. In campo zootecnico, numerose indagini su vasta scala condotte in vari Paesi indicano che la Paratubercolosi è oggi diffusa in tutto il mondo, con dati di prevalenza apparente di allevamenti infetti variabile fra il 7 e il 60%. Data l'ampia diffusione dell'infezione nel patrimonio zootecnico, l'esposizione della popolazione umana a MAP attraverso varie fonti alimentari (latte e derivati, carni, acqua) è stata ampiamente dimostrata. A causa dell'elevata resistenza di MAP, i trattamenti chimico-fisici volti al risanamento degli alimenti e delle acque non sono completamente efficaci nell'inattivare MAP; a tale proposito, diversi studi hanno dimostrato che la probabilità di contaminazione del prodotto finito è funzione del livello di contaminazione iniziale della materia prima. A ciò si aggiunga che alcuni Paesi terzi (India, Cina, Russia) hanno richiesto all'Italia garanzie sanitarie specifiche nei confronti di questa patologia, relativamente a prodotti lattiero caseari esportati. Per tutti i motivi sopraelencati, il Ministero della Salute ha richiesto al Centro di Referenza Nazionale la stesura di una proposta operativa d'intervento, con l'obiettivo primario di dare supporto alle certificazioni necessarie per l'esportazione dei prodotti alimentari, in particolare lattiero-caseari, cogliendo l'occasione per sensibilizzare gli allevatori all'adozione di misure atte a ridurre la diffusione della paratubercolosi sul territorio italiano. L'iter di stesura e discussione si è concluso con la pubblicazione in Gazzetta Ufficiale del 19.11.2013 delle Linee Guida per l'adozione dei piani di controllo e per l'assegnazione della qualifica sanitaria degli allevamenti nei confronti della Paratubercolosi bovina.

## W04

### Criteri microbiologici e obiettivi di sicurezza alimentare: quali prospettive?

Gerardo Manfreda,\* Alessandra De Cesare

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Italy

\*Corresponding author: [gerardo.manfreda@unibo.it](mailto:gerardo.manfreda@unibo.it)

Il tema della sicurezza alimentare ha visto, circa un decennio fa, l'emanazione a livello Europeo del Regolamento 178 del 2002 che introduce il concetto di elevato livello di protezione della salute umana basato su parametri formulati mediante l'analisi del rischio. Tali parametri sono stati definiti dal Codex Alimentarius come *food safety objective* (FSO) e *performance objective* (PO). Un FSO è la concentrazione o prevalenza massima di un patogeno in un alimento al momento del consumo, mentre un PO esprime la concentrazione o prevalenza massima di un patogeno prima del consumo, ed in particolare durante il processo produttivo. A fronte di questa visione la legislazione Europea, ed in particolare l'attuale Regolamento 2073 del 2005, non sembrano aver adottato questo approccio, dal momento che l'idoneità di un lotto di alimento ad essere commercializzato non viene valutata in funzione del rispetto dei valori di PO e FSO, ma in funzione dei criteri microbiologici (MC) i cui valori non sono basati sull'analisi del rischio. Sebbene le due tipologie di criteri di sicurezza (PO e FSO vs MC) non si escludano a vicenda, una delle ragioni per le quali la legislazione non fa riferimento a PO e FSO è la mancanza di chiarezza sul come definirli. Negli ultimi anni diversi studi sono stati condotti a livello Europeo per valutare un possibile approccio con il quale derivare PO specifici per diverse filiere alimentari. Esempi applicativi di definizione di PO per *L. monocytogenes* in carne da consumare previa cottura, per *Campylobacter* in carcasse di pollo ed per *E. coli* O157:H7 in carne di manzo sono riportati in questa relazione. I risultati ottenuti dimostrano come lo studio della variabilità ed incertezza rappresentano elementi essenziali nella definizione dei PO mentre non sono valutati nella verifica dei criteri microbiologici. In relazione ai PO, l'utilizzo di strumenti informatici (disponibili anche gratuitamente) sviluppati nell'ambito di un progetto Europeo denominato Baseline ([www.baselineeurope.eu](http://www.baselineeurope.eu)) può guidare l'autorità di controllo, come pure il *risk manager* aziendale, nel calcolo del piano di campionamento per valutarne il rispetto. Sulla base dei dati raccolti si possono implementare, a livello di singola filiera alimentare, diversi modelli di rischio per diverse combinazioni patogeno/matrice alimentare con i quali migliorare sempre di più la stima di PO e soprattutto degli FSO. L'introduzione di questi parametri nella legislazione Europea sulla sicurezza alimentare, insieme ai criteri microbiologici già adottati, può supportare i governi a raggiungere gli ALOP per la tutela del consumatore.

# COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

Mercoledì 10 settembre

## C01

### Impiego dell'Isotiocianato di allyle per il prolungamento della shelf life di filetti di orata (*Sparus aurata*)

Filippo Giarratana,\* Chiara Crinò, Daniele Muscolino, Chiara Beninati, Graziella Ziino, Alessandro Giuffrida, Antonio Panebianco

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università Messina, Italy

\*Corresponding author: fgarratana@unime.it

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di saggiare *in vitro* l'attività inibente dell'Isotiocianato di allyle (AITC) nei confronti di diversi ceppi di batteri alteranti di origine ittica. Successivamente si è valutato l'impiego dei vapori di AITC al fine del prolungamento della conservabilità di filetti di orata (*Sparus aurata*). La valutazione *in vitro* dell'attività inibente è stata effettuata su 39 ceppi di batteri alteranti di origine ittica (21 appartenenti al genere *Pseudomonas*; 17 al genere *Shewanella* e 1 al genere *Aeromonas*) impiegando sia il metodo classico della diffusione in gel di agar che la crescita in piastre all'interno di giare per anaerobiosi in cui si facevano evaporare quantità note della sostanza. Successivamente si saggiava l'effetto sulla shelf life di filetti di orata posti in vaschette plastiche chiuse ermeticamente ed al cui interno si manteneva, o solo per un'ora o permanentemente, per tutto il periodo della sperimentazione, una striscia di carta da filtro imbevuto con 10 µL di AITC. Per entrambi i gruppi, così come per un terzo gruppo controllo, si effettuavano valutazioni sensoriali e batteriologiche (conta della carica batterica su Iron Agar) ad intervalli regolari, nel corso dello stoccaggio a 6°C, fino a quando il gruppo controllo non veniva considerato non idoneo al consumo in relazione agli aspetti organolettici. Le prove *in vitro* hanno mostrato una totale inibizione della crescita di tutti gli alteranti, a tutte le concentrazioni saggiate, sia in agar che in giara (vapori). Per quanto riguarda le prove sui filetti, gli andamenti batteriologici hanno confermato quanto evidenziato *in vitro*, dal momento che dopo 72 ore, quando il gruppo controllo risultava già al limite dell'accettabilità, i filetti trattati mostravano cariche piuttosto contenute che, invece, raggiungevano valori critici (Log 5,9-6,5 ufc/g) solo alla 144ma ora. Tali aspetti venivano confermati anche dall'esame sensoriale che mostrava la totale accettabilità dei prodotti trattati con AITC per tutto il periodo della sperimentazione. I risultati ottenuti dimostrano come l'impiego dell'AITC possa risultare piuttosto interessante per prolungare la shelf life dei prodotti ittici. Il sinergico impiego di questo additivo con altre tecnologie di condizionamento (MAP e sottovuoto) potrebbe intensificare il suddetto effetto e consentire di ridurre ulteriormente le concentrazioni di impiego.

## C02

### Frodi per sostituzione di specie in prodotti della pesca preparati in Italia meridionale

Patrizia Marchetti,\* Valentina Terio, Marilisa Bottaro, Anna Mottola, Elisabetta Bonerba, Giancarlo Bozzo, Giuseppina Tantillo, Angela Di Pinto

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari Aldo Moro, Valenzano (BA), Italy

\*Corresponding author: patriziamarchetti77@libero.it

Considerando che le frodi per sostituzione di specie nei prodotti della pesca sono state segnalate in tutto il mondo e che l'autenticità delle componenti alimentari è una delle questioni chiave in termini di qualità e sicurezza alimentare, lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la prevalenza di un'etichettatura non corretta in filetti di sogliola (*Solea solea*), di platessa (*Pleuronectes platessa*) e di nasello (*Merluccius merluccius*) acquistati presso mercati e supermercati situati in Puglia (sud-est dell'Italia) utilizzando il DNA *barcoding*. Visto il Decreto Ministeriale Italiano delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali (MiPAAF) del 31 gennaio 2008, relativo alla denominazione in lingua italiana delle specie ittiche di interesse commerciale, i risultati delle indagini molecolari hanno rivelato che 31/75 campioni di filetti (41,3%) non erano etichettati correttamente. In particolare, 9/25 filetti di sogliola (*Solea solea*) sono stati identificati come appartenenti a *Solea senegalensis*; 11/25 campioni di platessa (*Pleuronectes platessa*) sono stati identificati come *Pangasius hypophthalmus*. Inoltre, l'analisi dei risultati post-sequenziamento ha rilevato che 11/25 filetti di nasello (*Merluccius merluccius*) erano etichettati in modo non corretto, dei quali 6/25 campioni sono stati identificati come *Merluccius hubbsi*, 3/25 campioni come *Merluccius productus* e 2/25 come *Merluccius capensis*. Lo studio rivela una elevata presenza di sostituzione di specie nei prodotti della pesca preparati e un'ulteriore prova della necessità di una maggiore tracciabilità e valutazione della genuinità dei prodotti alimentari.

## C03

### Valutazione e comparazione di quattro protocolli di estrazione proteica per elettroforesi mono e bidimensionale in *Mytilus galloprovincialis*

Marina Ceruso,\* Claudia Chirillo, Federica Boccia, Giorgio Smaldone, Raffaele Marrone, Tiziana Pepe

Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II, Italy

\*Corresponding author: marina.ceruso@gmail.com

Lo studio del profilo proteomico dei prodotti della pesca è stato condotto con diversi obiettivi. L'analisi comparativa delle proteine sarcoplasmatiche di prodotti ittici allevati e pescati in mare aperto è stata impiegata per valutare l'impatto dell'acquacoltura sulla qualità dei prodotti della pesca. Più recentemente, lo studio del proteoma è stato utilizzato a supporto della genomica per l'identificazione di specie affini caratterizzate da scarsi polimorfismi espressi da mutazioni puntiformi. Numerosi studi di proteomica sono stati condotti su alcune specie di molluschi al fine di ottenere maggiori informazioni sul grado di inquinamento ambientale, dato che essi sono ottimi bioindicatori. In letteratura, sono stati descritti numerosi metodi di estrazione delle proteine dai mitili, con significative differenze nella resa e nella purezza degli estratti. Standardizzare ed ottimizzare il protocollo di estrazione è di fondamentale importanza per proseguire in modo corretto qualsiasi indagine conoscitiva sulle matrici oggetto di studio. Scopo di questa ricerca è stato quello di confrontare quattro metodiche di estrazione delle proteine tra le più utilizzate in letteratura per matrici organiche al fine di identificare un protocollo di estrazione affidabile, specifico e riproducibile per i molluschi bivalve. Per l'estrazione delle proteine dai mitili sono stati utilizzati i seguenti protocolli: i) TRIzol; ii) lysis buffer; iii) phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF); iv) acido tricloroacetico-acetone. Le analisi sono state condotte sull'intero proteoma di tre esemplari di *Mytilus galloprovincialis*. I campioni sono stati sminuzzati e polverizzati in azoto liquido. Da ciascun campione

sono state ricavate quattro aliquote, utilizzate per l'estrazione delle proteine seguendo i quattro protocolli indicati. Ciascuna estrazione è stata condotta in triplicato. La resa proteica è stata valutata mediante saggio di Bradford. Gli estratti sono stati successivamente analizzati mediante elettroforesi mono e bidimensionale. I risultati evidenziano che i quattro metodi utilizzati per l'estrazione producono estratti significativamente differenti in termini di resa e qualità delle proteine. In particolare, il protocollo che utilizza acido tricloroacetico ed acetone ha dato maggiore resa e compatibilità con l'isoelettrofocalizzazione, il più alto grado di definizione degli *spot* in elettroforesi mono e bidimensionale e la maggiore riproducibilità. La presente ricerca contribuisce ad accrescere le informazioni sulle tecniche di estrazione delle proteine da matrici alimentari complesse quali *M. galloprovincialis* e sottolinea l'importanza della scelta di protocolli validi al fine di condurre indagini conoscitive che consentano una corretta interpretazione dei dati. I risultati di questo studio suggeriscono l'utilizzo di un protocollo efficace sia per condurre studi di ecotossicologia dai mitili sia per altre indagini condotte dal proteoma estratto da matrici alimentari particolarmente complesse come il *M. galloprovincialis*.

## C04

### Utilizzo del DNA *barcoding* per il controllo di specie del genere *Octopus*

Francesco Debenedetti,<sup>1</sup> Alessandra Dalmaso,<sup>1</sup>  
 Maria Teresa Bottero,<sup>1</sup> Maurizio Gilli,<sup>2</sup> Stefano Gilli,<sup>2</sup>  
 Valentina Tepedino,<sup>3</sup> Tiziana Civera<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Patologia Animale, Università di Torino, Grugliasco (TO);

<sup>2</sup>Azienda Sanitaria Locale, Torino; <sup>3</sup>Eurofishmarket Srl, Bologna, Italy

\*Corresponding author: tiziana.civera@unito.it

Il DNA *barcoding* propone l'utilizzo di una sequenza di una singola porzione genica come base di un sistema identificativo valido per l'identificazione di tutti gli animali. Questa tecnica prevede l'analisi di un frammento di 655 bp della subunità I della citocromo C ossidasi (COI). La sua applicazione nel campo dell'identificazione delle specie ittiche si è rilevata molto promettente fin dall'inizio, tuttavia sono emersi, nel corso degli anni, alcuni dubbi sul suo utilizzo. In questo lavoro abbiamo voluto impiegare il DNA *barcoding* per l'identificazione di alcune specie di polpi di maggior interesse commerciale (*Octopus membranaceus*, *Octopus vulgaris*, *Octopus aegina*, *Octopus cyanea*) focalizzando l'attenzione sull'attendibilità e la completezza delle banche dati. Sono stati analizzati 51 soggetti appartenenti al genere *Octopus*. Per le specie *O.aegina*, *O.cyanea*, *O.vulgaris* non sono state riscontrate particolari difficoltà nell'identificazione. Viceversa la maggior parte dei campioni di *O. membranaceus*, nonostante presentasse inequivocabilmente le caratteristiche morfologiche della specie, non è stata identificata con le analisi biomolecolari.

## C05

### Presenza di residui di monossido di carbonio in filetoni di tonno (*Thunnus albacares*) confezionati sottovuoto

Raffaele Marrone,<sup>1\*</sup> Celestina Mascolo,<sup>1</sup> Giuseppe Palma,<sup>2</sup>  
 Giorgio Smaldone,<sup>1</sup> Mariagrazia Girasole,<sup>1</sup> Aniello Anastasio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II; <sup>2</sup>Assoitica Italia, Roma, Italy

\*Corresponding author: raffaele.marrone@unina.it

Al fine di fornire all'operatore ed alle autorità competenti indicazioni per individuare corrette procedure per la gestione del rischio associata al trattamento di prodotti della pesca con monossido di carbonio (CO), scopo di questo lavoro è stato valutare la presenza di tale sostanza in filetoni di tonno importati, attraverso spettrofotometria UV-VIS. Nel periodo ottobre-dicembre 2013 sono stati esaminati 29 filetoni di tonno (*Thunnus albacares*) per un totale di 8 tornate di analisi. I campioni confezionati singolarmente sottovuoto venivano prelevati da una ditta situata in Regione Campania satellite dell'azienda spagnola produttrice e trasportati a temperatura di refrigerazione (+4°C) presso il laboratorio dell'Unità di Ispezione Alimenti del Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II. All'arrivo in laboratorio si procedeva alla valutazione dell'etichetta e delle caratteristiche. Da ogni filettone sono state isolate 3 parti di 150 g ciascuna (dorsale, ventrale e laterale) che venivano singolarmente omogeneizzate. Da ogni parte venivano prelevati 10 g che rappresentavano l'aliquota campionaria e che venivano analizzate per la determinazione quali-quantitativa del monossido carbonio mediante spettrometria UV-VIS. In totale sono stati analizzati n. 87 campioni (29 filetoni 3 aliquote). Il contenuto di CO ritrovato nei campioni analizzati (media delle 3 determinazioni) è risultato essere nella maggioranza dei casi (27 campioni su 29) inferiore ai 200 ng/g considerato il limite internazionalmente accettato quale indice di illecito trattamento. Solo in un filettone il valore medio riscontrato è stato di 777 ng/g di CO. Infine in un campione è stata evidenziata una concentrazione di CO superiore al limite summenzionato ma rientrante nel margine di incertezza prevista dalla metodica utilizzata con un valore medio di 283 ng/g. Le nostre analisi hanno mostrato una bassissima positività con soli 2 campioni positivi su 29 analizzati (media delle 3 determinazioni); di questi uno, tenuto conto dell'incertezza della metodica, ha presentato livelli medi molto vicini alla soglia imputabile ad una *naturale* presenza. Tuttavia è da sottolineare che in alcune aliquote dei campioni (n. 2 dorsali; n. 1 ventrale) che hanno presentato valori medi inferiori a 200 ng/g, sono state evidenziate concentrazioni di poco superiori a questo valore, a testimonianza dell'alta variabilità della distribuzione del monossido all'interno del filetto. Il notevole margine di incertezza (30%) della metodica dovrebbe indirizzare verso l'adozione di metodiche ufficiali più specifiche e sensibili da utilizzare come metodo di conferma. Diversamente dal contesto europeo dove ad eccezione di sporadici casi l'impiego del CO è proibito, negli USA l'utilizzo del CO è consentito a patto che sia riportato in etichetta; per tale motivo l'obiettivo è arrivare a definire una *minimal dose effect*, cioè una dose minima di trattamento tale da consentire il raggiungimento del colore desiderato senza arrivare a livelli residuali estremamente elevati. In ambito europeo, invece, la possibilità di disporre di un metodo di conferma è determinata nella lotta ad eventuali frodi e nell'ambito di un'armonizzazione del commercio di questi prodotti, nella maggioranza dei casi importati.

## C06

### Analisi chimiche e microbiologiche in gasteropodi (*Helix aspersa maxima* e *Helix aspersa muller*) commercializzati in Sicilia

Antonello Cicero, Giuseppe Giangrosso, Gaetano Cammilleri,  
 Andrea Macaluso, Vittoria Currò, Lucia Galuppo, Daniela Vargetto,  
 Domenico Vicari, Vincenzo Ferrantelli\*

Centro di Referenza Nazionale per le Anisakiasi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo, Italy

\*Corresponding author: vincenzo.ferrantelli@izssicilia.it

Sono stati esaminati 160 campioni di gasteropodi appartenenti alle specie *Helix aspersa maxima* e *Helix aspersa muller*, provenienti rispettivamente dalla Polonia e dalla Grecia per la ricerca di parametri microbiologici e chimici (metalli pesanti). I risultati hanno evidenziato una concentrazione media di Cadmio ( $0,35 \pm 0,036$  mg/kg) e Piombo ( $0,05 \pm 0,013$  mg/kg) di molto superiori ai limiti di rivelabilità del metodo utilizzato (0,003 mg/kg sia per Cd che Pb). Non sono stati rilevati livelli di mercurio. L'analisi microbiologica ha rilevato l'assenza di *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. in entrambe le specie esaminate. *E. coli* e *Klebsiella oxytoca* sono stati riscontrati sia in *Helix aspersa maxima* che in *Helix aspersa muller*. È stato riscontrato inoltre un caso di positività a miceti nei campioni di *Helix aspersa muller*. Le indagini riportate evidenziano la necessità di adottare una normativa di riferimento, attualmente non presente, per tutelare la salute del consumatore.

## C07

### I nematodi della famiglia Anisakidae come marker di rintracciabilità dei prodotti ittici

Vincenzo Ferrantelli,\* Antonella Costa, Stefania Graci, Maria Drusilla Buscemi, Giuseppe Giangrosso, Casimira Porcarello, Paola Palumbo, Gaetano Cammilleri

Centro di Referenza Nazionale per le Anisakiasi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo, Italy

\*Corresponding author: vincenzo.ferrantelli@izssicilia.it

In questo lavoro sono stati analizzati 949 campioni di pesce per l'identificazione di larve di nematodi appartenenti alla famiglia Anisakidae. L'indagine biomolecolare per l'identificazione di larve di Anisakidae può rilevarsi uno strumento valido per la rintracciabilità dei prodotti ittici, descritta nel Reg. UE 178/2002. I risultati confermano una correlazione tra distribuzione geografica dei pesci e presenza di specifiche larve di Anisakidae. La zona di pesca FAO 37 (Mar Mediterraneo) ha mostrato la presenza di infestazione da *Anisakis pegreffii* e la presenza di *A. simplex* ss in forma ibrida con *Anisakis pegreffii*. La zona FAO 27 (Oceano Atlantico) ha mostrato la presenza di *A. simplex* ss in pesci come il *Brosme* (*Brosme brosme*) e la presenza di *Pseudoterranova krabbei* e *P. decipiens* ss in *Gadus morhua*. I risultati ottenuti sembrano confermare l'ipotesi sull'uso di metodiche di biologia molecolare per l'identificazione di larve di Anisakidae come marker di rintracciabilità dei prodotti ittici.

## C08

### Ricerca di *Arcobacter* spp. in campioni di *Mytilus galloprovincialis* commercializzati nella regione Puglia

Elisabetta Bonerba,<sup>1</sup> Anna Mottola,<sup>1\*</sup> Antonio Parisi,<sup>2</sup> Angela Di Pinto,<sup>1</sup> Andrea Serraino,<sup>3</sup> Giancarlo Bozzo,<sup>1</sup> Federica Giacometti,<sup>3</sup> Edmondo Ceci,<sup>1</sup> Giuseppina Tantillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari Aldo Moro, Valenzano (BA); <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della

Basilicata, Putignano (BA); <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO), Italy

\*Corresponding author: annamottola\_2006@libero.it

Lo studio ha valutato la presenza di *Arcobacter* spp. in 20 campioni di *Mytilus galloprovincialis*, acquistati presso mercati ittici e peschierie delle province di Bari e Brindisi. La ricerca di *Arcobacter* spp. è stata effettuata previo arricchimento su modified charcoal cefoperazione deoxycholate (mCCD) agar, supplementato con CAT (Cefoperazione, Amphotericin B e Teicoplanin). In 6 dei 20 campioni esaminati è stata riscontrata la presenza di *Arcobacter* spp. confermata mediante PCR genere specifica. In seguito a sequenziamento parziale del gene 16S rDNA e successivo BLAST on line delle sequenze ottenute, tutti gli isolati sono stati identificati appartenenti alla specie *Arcobacter butzleri*. I risultati ottenuti rappresentano la prima segnalazione in Italia di *A. butzleri* in *Mytilus galloprovincialis* regolarmente commercializzati ed evidenziano l'importanza assunta da questo patogeno emergente nell'ambito di una valutazione del rischio, proiettata anche nel settore ittico.

## C09

### Rilevamento e caratterizzazione di ceppi produttori d'istamina della specie *Photobacterium damsela* ssp. *damsela* isolati da Mugilidi

Marcello Trevisani,<sup>1\*</sup> Claudia Costanza,<sup>1</sup> Rocco Mancusi,<sup>1</sup> Matilde Cecchini,<sup>1</sup> Marino Prearo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO); <sup>2</sup>Laboratorio Specialistico Ittiopatologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy

\*Corresponding author: marcello.trevisani@unibo.it

*Photobacterium damsela* ssp. *damsela* (Pdd) è stato isolato da pesci implicati in focolai d'intossicazione da istamina, ma non ci sono dati sull'attività istidino-decarbossilasica (HDC) di ceppi isolati da pesci allevati o pescati nei mari italiani. In questo studio è stata caratterizzata la capacità istaminogena di otto ceppi di Pdd isolati da Mugilidae pescati nel Mar Ligure orientale ed è stato sviluppato un protocollo per isolare Pdd dalla carne di pesce. La concentrazione d'istamina è stata misurata con un biosensore enzimatico dopo un periodo di arricchimento a 30°C in Tryptone-Soy-broth contenente istidina (TSB+) in cui i ceppi erano stati inoculati in concentrazione di circa 103 CFU/mL. Due ceppi forti produttori d'istamina sono stati utilizzati per contaminare artificialmente dei filetti di sgombro freschi (4 o 40 UFC/g). I campioni sono stati arricchiti in TSB+a 25°C per 48 ore e seminati su thiosulfate-citrate-bile-salt-sucrose-agar (TCBS). Le colonie sospette sono state trapiantate su Niven agar e caratterizzate con prove biochimiche e un test PCR per la ricerca di geni specie-specifici per ureasi e 16S rRNA. I ceppi Pdd provenienti dai mugilidi si sono dimostrati produttori di istamina (nelle colture in TSB+la concentrazione era compresa tra 167 e 8977 µg/mL). Pdd è stato isolato da tutti i filetti contaminati artificialmente. La presenza del gene HDC è stata rilevata utilizzando dei primer specie-specifici disegnati in questo studio. La presenza di Pdd nei mugilidi non può causare intossicazioni alimentari, ma è possibile che questi pesci siano fonte di contaminazione per altre specie ittiche a rischio.

## C10

**La speciazione dell'arsenico nei prodotti della pesca come prerequisito per un corretto risk assessment: studio preliminare in un ambiente costiero (laguna di Boi Cerbus) della Sardegna sud-occidentale (Sulcis-Iglesiente)**

Pierluigi Piras,<sup>1\*</sup> Roberta Orletti,<sup>2</sup> Giannina Chessa,<sup>3</sup> Cristiano Carloni,<sup>2</sup> Francesco Griffoni,<sup>2</sup> Paolo Palombo,<sup>2</sup> Francesco Velieri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Azienda Sanitaria Locale, Carbonia (CI); <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche, Sezione di Ancona; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreffi, Sassari, Italy

\*Corresponding author: pirasp@tiscali.it

La forma o *specie chimica* di un determinato elemento è spesso importante quanto la sua quantità e ciò vale in particolar modo per l'arsenico (As), poiché la tossicità delle sue varie forme si differenzia in modo davvero notevole. Precedenti studi su campioni di molluschi, crostacei e pesci prelevati nella laguna di Boi Cerbus, in una zona mineraria ed industriale della Sardegna sud-occidentale, avevano evidenziato la presenza di alte concentrazioni di arsenico totale (Astot). Tuttavia, il solo dato relativo a tale parametro non risultava sufficiente allo svolgimento di un corretto *risk assessment*. Come è noto infatti il JEFCA *provisional tolerable weekly intake* (PTWI) fornisce un'indicazione sui livelli di assunzione massima per l'arsenico inorganico (Asinorg) e non per le specie organiche dell'elemento, ritenute di scarsa o nulla rilevanza tossicologica per gli organismi viventi. Poiché nei prodotti della pesca sono notoriamente prevalenti le forme organiche dell'As, in assenza di dati sito-specifici sulla proporzione di Asinorg/Astot, è emersa la necessità di disporre di dati di speciazione utili ad evitare gli effetti distorsivi di una sovrastima del rischio sanitario. È infatti l'analisi discriminante dell'Asinorg, altamente tossico, dalle forme organiche dell'elemento a rivestire un'importanza cruciale nella valutazione del rischio legato alla sua esposizione alimentare. Nel presente studio si è adottata una particolare procedura analitica che permette, con tecnica accoppiata HPLC-ICP-MS, di effettuare l'analisi di speciazione dell'elemento con la determinazione selettiva dell'Asinorg, consentendo poi la sua quantificazione proporzionale sull'Astot, ottenuto attraverso la parallela determinazione con tecnica ICP-MS. Le determinazioni sono state effettuate su 80 campioni, riferibili a 14 specie acquatiche eduli pescate/raccolte in tre diverse stagioni (inverno, primavera ed estate) nel corso del 2013. I dati analitici sono stati elaborati statisticamente per valutare differenze significative sulla base della stagione, del taxon e dell'habitat, ai fini di un successivo *risk assessment*. Lo studio conferma come l'As sia un elemento ampiamente diffuso, anche nell'ambiente marino-lagunare indagato, sotto diverse forme chimiche: quelle inorganiche, molto tossiche, ma presenti in quantità estremamente basse negli organismi acquatici, i quali invece accumulano in prevalenza forme organiche dell'As, scarsamente o per nulla tossiche, ed a varie concentrazioni che riflettono, verosimilmente, caratteristiche specie-specifiche nel metabolismo dell'elemento. Il presente studio aggiunge contributi specifici alla conoscenza dei livelli e speciazione chimica dell'As in una diversificata rappresentanza di organismi marini eduli presenti in zone costiere prossime a siti industriali e ad aree minerarie dismesse.

## C11

**Caratteristiche microbiologiche delle paste artigianali e industriali vendute nella provincia di Benevento**

Vittoria Ricci, Letizia Petrella, Francesca Barone\*

Agenzia Regionale Protezione Ambiente Campania, Sezione di Benevento, Italy

\*Corresponding author: f.barone@arpacampania.it

Lo scopo di questo studio preliminare è la valutazione della qualità della pasta venduta nella provincia di Benevento. Sono stati campionati un totale di 85 campioni e sono stati suddivisi in base al tenore di umidità in pasta secca e fresca e in base agli ingredienti in farcita e non. I parametri ricercati sono stati: conta dei microrganismi a 30°C, conta dei coliformi totali, conta di *Escherichia coli* -glucuronidasi-positivo e conta di *Bacillus cereus* presunto. La pasta secca ha dimostrato un eccellente profilo igienico-sanitario. Tra i campioni di pasta fresca la percentuale di conformità è risultata del 75,8%. Un tenore di acqua libera maggiore di 0,92, le fasi di lavorazione e gli ingredienti utilizzati possono favorire la crescita batterica limitando la salubrità e la *shelf life* di questo prodotto. La pasta fresca non confezionata è risultata più contaminata, in particolare se ripiena. Inoltre il *Bacillus cereus* presunto è risultato presente in quasi il cinquanta per cento dei campioni, confermando l'importanza di introdurre la ricerca di questo microrganismo nei piani di controllo.

## C12

**Qualità nutrizionale di una preparazione a base di Döner kebab commercializzata in due città del Veneto**

Monica Panozzo,<sup>1</sup> Luciano Magro,<sup>2</sup> Ilario Erle,<sup>3</sup> Stefano Ferrarini,<sup>3</sup> Riccardo Murari,<sup>4</sup> Enrico Novelli,<sup>1\*</sup> Simone Masaro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università di Padova; <sup>2</sup>Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, Università di Padova; <sup>3</sup>Servizio di Igiene degli Alimenti di Origine Animale, ULSS 6 Vicenza; <sup>4</sup>Servizio di Igiene degli Alimenti di Origine Animale, ULSS 20 Verona, Italy

\*Corresponding author: enrico.novelli@unipd.it

Nel periodo compreso fra settembre e ottobre 2012 sono stati campionati 7 esercizi ubicati nella città di Verona e 13 esercizi nella provincia di Vicenza, di cui 11 ubicati in città e 2 a Bassano del Grappa (VI). Lo studio aveva l'obiettivo di effettuare la misura del valore energetico, della composizione bromatologica e del profilo degli acidi grassi di Döner kebab pronto per il consumo. Al fine di poter stimare con una certa accuratezza la percentuale dei quattro principali ingredienti (pane o piadina, verdura, salse e carne) all'atto del campionamento si è proceduto con il prelievo in contenitori separati dei suddetti ingredienti mantenendo, in ciascun esercizio, le proporzioni abituali di allestimento del piatto. In laboratorio si è proceduto con il rilievo del peso dei singoli ingredienti cui ha fatto seguito la macinazione e omogenizzazione degli stessi. Dall'omogenato sono state prelevate le aliquote per la determinazione analitica di: i) valore energetico mediante bomba calorimetrica, ii) umidità mediante essiccazione a 103°C, iii) proteina grezza mediante metodo Kjeldahl e coefficiente di conversione dell'azoto 6,25, iv) grasso grezzo per via gravimetrica, v) ceneri a mezzo combustione in forno a muffola, vi) sale con il metodo di Volhard modificato, vii) amido mediante metodo enzimatico, viii) collagene (riferito alla carne) mediante idrolisi acida, ossidazione dell'idrossiprolina a pirrolo, sua complessazione con il reattivo di Ehrlich

e misura dell'assorbimento dell'addotto a 558 nm, ix) fibra alimentare mediante metodo gravimetrico-enzimatico. Il profilo degli acidi grassi è stato ottenuto in gascromatografia. I risultati hanno evidenziato una elevata standardizzazione della ricetta laddove il confronto fra città ha rilevato nella concentrazione di amido l'unica differenza significativa. L'ingrediente più variabile, in termini percentuali, è risultato essere la carne (min 22,7%, max 56,5%). La porzione di vendita aveva un peso medio di 402 g (min 274 g, max 618 g). L'apporto energetico della porzione media del presente campionamento soddisfa il 45 e il 36% dell'assunzione giornaliera raccomandata (RI) di energia per la femmina e il maschio rispettivamente. Nei confronti dei diversi macronutrienti, rispettivamente per la femmina e il maschio adulti, la porzione media copre il 95,7 e 82,1% del RI di proteina, il 48,0 e 37,7% degli acidi grassi monoinsaturi, il 37,2 e 29,2% dei polinsaturi, il 16,9 e 13,3% degli acidi grassi n3, il 40,8 e il 33,4% degli n6. Inoltre, la porzione media apporta l'85,5% del RI di sale, il 42,5 e 33,4% del RI di acidi grassi saturi e il 15,2 e 12,1% del RI di fibra alimentare per la femmina e il maschio adulti rispettivamente. In conclusione, Döner kebab è un piatto ad elevato contenuto energetico e di macronutrienti, che dal punto di vista nutrizionale può essere considerato un sostituto, sebbene occasionale, di uno dei due pasti giornalieri.

### C13

#### Impiego di acido ascorbico come additivo alimentare e problematiche tecnico-giuridiche

Michele Varvara,<sup>1</sup> Giancarlo Bozzo,<sup>1</sup> Chiara Disanto,<sup>2</sup> Cosimo Nicola Pagliarone,<sup>2</sup> Gaetano Vitale Celano<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari A. Moro, Valenzano (BA); <sup>2</sup>Med and Food C.Q.S. srl, Valenzano (BA), Italy

\*Corresponding author: gaetanovitale.celano@uniba.it

L'acido ascorbico (C6H8O6), meglio conosciuto come vitamina C, è un composto organico appartenente alla famiglia dei monosaccaridi. Risulta fortemente idrosolubile ed è spesso richiamato tra i segreti della dieta mediterranea. Importante risulta anche la diffusione del suo impiego nell'industria alimentare, che da sempre ne sfrutta le capacità antiossidanti e stabilizzanti. Numerose infatti sono le formulazioni di additivi che sfruttano tali proprietà dell'acido ascorbico. Scopo del presente lavoro è quello di esplicitare le peculiarità che rendono l'acido ascorbico un importante additivo alimentare e di sottolineare le problematiche tecnico-giuridiche legate al suo impiego nelle produzioni. In particolare modo, nel corso del lavoro, la normativa vigente e gli studi scientifici sono stati applicati per la risoluzione di un contenzioso penale, avente come oggetto l'impiego non consentito di acido ascorbico in preparazioni di carne macinata in vendita presso una macelleria. Le considerazioni espresse in sede legale dal consulente tecnico di parte hanno permesso l'assoluzione dell'imputato, perchè il fatto non sussisteva, alla luce della dimostrata e comprovata non tossicità della molecola e dell'impiego di una miscela di additivi per la produzione di salsiccia. La normativa nazionale e comunitaria, supportate da numerosi studi scientifici, definiscono la possibilità di impiego dell'acido ascorbico secondo il principio del *quantum satis* e ne permettono l'impiego anche in alimenti destinati ai bambini. Il nostro lavoro vuole rappresentare un'ulteriore testimonianza della sicurezza di impiego dell'acido ascorbico come additivo alimentare e, come confermato dalla sentenza penale, vuole fare emergere le prospettive di utilizzo dell'acido ascorbico a fini tecnologici anche da parte di stabilimenti con registrazione ai sensi di legge.

## TAVOLA ROTONDA

Giovedì 11 settembre

### T01

#### Indicatori del benessere degli animali presentati al macello: lo stato di pulizia in relazione allo stato microbiologico delle carcasse

Gaetano Liuzzo\*

Azienda Sanitaria Locale, Modena, Italy

\*Corresponding author: g.liuzzo@ausl.mo.it

L'obbligo di garantire la pulizia degli animali appare in varie normative del diritto comunitario derivato. Per il Reg.(CE) 852/2004 gli allevatori devono assicurare, per quanto possibile, la pulizia degli animali che vengono inviati alla macellazione (All. I, parte A, punto II, p.4 I c). Per il Reg.(CE) 853/04 gli operatori del settore alimentare responsabili dei macelli, devono conformarsi a diversi requisiti fra cui quello che gli animali devono essere puliti [Reg.(CE) 853/2004, All. III, Sez. I, Cap. IV, p.4]. Tale precetto della pulizia viene ribadito, con il fine di risparmiare all'animale dolore, ansia e sofferenza dal Reg. (CE) 1099/2009, che obbliga gli operatori dei macelli a prendere i provvedimenti necessari per garantire che gli animali ricevano conforto fisico e protezione, in particolare tenendoli puliti (Capo II, art. 3, p.2 I a). Il Veterinario ufficiale è chiamato poi alla verifica dell'osservanza di tale obbligo in modo da assicurare che gli animali la cui pelle o vello sia in condizioni di rappresentare un rischio inaccettabile di contaminazione delle carni durante il processo di macellazione, non devono essere macellati, fatto salvo che non vengano preventivamente puliti [All. I, Sez. II, Capo III, p.3 del Reg. (CE) 854/2004]. Il legislatore comunitario ha fondato l'obbligo di pulizia degli animali sull'esistenza di prove sempre più numerose ed approfondite che dimostrano come vi sia una correlazione fra animali sporchi e contaminazione delle carcasse e possibili intossicazioni alimentari, con il fine di garantire gli standard microbiologici richiesti dalla legislazione comunitaria e contenuti nel Reg.(CE) 2073/2005. Si assume infatti, che alla *cute visibilmente sporca* corrisponda generalmente una *carcassa microbiologicamente contaminata* sia in termini di organismi indicatori che di germi patogeni come VTEC O157. La pulizia degli animali, soprattutto bovini, è essenziale per assicurare la produzione igienica degli alimenti, la qualità microbiologica delle carcasse, la qualità della pelle ed il benessere animale. Di fronte alla necessità di intraprendere delle azioni correttive nei confronti dell'elemento di pericolo *insudiciamento della cute*, l'operatore ha a disposizione, almeno in linea teorica, una serie di misure per ottenere la decontaminazione della cute degli animali. I trattamenti che sono stati sperimentati e la cui valutazione di efficacia è stata misurata sono orientati ad ottenere la depilazione della cute degli animali bovini o l'inattivazione della carica batterica o ancora la fissazione del sudiciume della cute e quindi l'*immobilizzazione* dei batteri ivi sequestrati. Gli interventi che sono stati proposti dovrebbero essere sicuri, praticabili, senza effetti sulla qualità organolettica dell'alimento carne e accettati dal consumatore. A questo proposito, in uno studio condotto su consumatori di cinque Paesi europei (Francia, Germania, Polonia, Spagna e Regno Unito) circa il livello di accettazione di vari interventi volti al miglioramento della sicurezza delle carni bovine, la maggior parte dei partecipanti allo studio (65%) ha

considerato la decontaminazione della cute degli animali bovini prima della macellazione come un processo accettabile (24,9% completamente accettabile, 40,1% abbastanza accettabile). L'atteggiamento dei consumatori cambia però quando il giudizio viene espresso riguardo alle modalità con cui la decontaminazione viene ottenuta, specie quando nelle domande viene utilizzato il termine *chimico*. Fra le possibili opzioni di controllo delle contaminazioni delle carcasse e quindi delle carni viene individuata, soprattutto per la specie bovina, la valutazione visiva del grado di pulizia. Questa valutazione, ad opera del responsabile del macello e del veterinario ufficiale consente inoltre di valutare gli indicatori epidemiologici per la presenza di *Salmonella* spp. e *E.coli* verocitotossici. Nel corso degli anni ed in vari Paesi sono stati definiti vari sistemi di valutazione della pulizia della cute dei bovini che hanno trovato una loro codifica ed inserimento nelle pratiche ispettive *ante-mortem* dei Paesi in cui sono stati definiti.

## T02

### Il sistema di valutazione CRenBA per il benessere e la biosicurezza nell'allevamento bovino

Luigi Bertocchi,\* Francesca Fusi

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

\*Corresponding author: luigi.bertocchi@izsler.it

Il benessere degli animali e la biosicurezza negli allevamenti da reddito è un argomento che sta diventando sempre più pressante e stringente, a causa del vistoso interesse che suscita nell'opinione pubblica e per la grande attenzione che i media gli riservano. In particolare, a seguito delle grandi emergenze sanitarie degli ultimi anni (es. pollo alla diossina, BSE, influenza aviaria), l'attenzione dei consumatori si è focalizzata dapprima sulla qualità e salubrità dei prodotti di origine animale, e in seguito sulla sostenibilità ed eticità delle produzioni, soprattutto se di tipo intensivo. L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, attraverso il Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale (CRenBA), ha messo a punto un sistema di valutazione del benessere e della biosicurezza per l'allevamento dei bovini (bovina da latte a stabulazione libera e bovino da carne - sono in corso d'opera i sistemi per le altre tipologie d'allevamento), basato sulle più recenti acquisizioni in materia di valutazione del rischio prodotte dall'EFSA, sul progetto di ricerca Welfare Quality®, sulla bozza normativa per il benessere bovino in sede a Strasburgo e sulla normativa vigente in materia (D. L.vo 146/2001 e 126/2011). Il sistema è composto da una serie di quesiti a risposta multipla divisi in 5 aree di pertinenza: Area A (Management aziendale e personale); Area B (Strutture ed attrezzature); Area C [Animal Based Measures (ABMs)]; Area D (Controllo delle condizioni ambientali e dei sistemi di allarme); Area E (Biosicurezza). Al termine della valutazione, i dati sono inviati al CRenBA che li elabora per produrre un certificato da restituire al valutatore (un medico veterinario istruito tramite un apposito corso di formazione). Il certificato riporta una serie di indicazioni sulla situazione dell'allevamento ed esprime due numeri che danno un'indicazione del livello di benessere medio di tutti gli animali presenti e del livello di rischio in termini di biosicurezza. Il sistema è uno strumento valido, facilmente applicabile in campo e in grado di fornire al veterinario valutatore un quadro dettagliato dei maggiori rischi e pericoli per il benessere e per la bio-

sicurezza presenti nell'allevamento. Queste indicazioni possono essere utilizzate sia dalla veterinaria pubblica per categorizzare gli allevamenti in diverse classi di rischio, sia dai veterinari liberi professionisti come supporto nell'attività di consulenza all'allevatore. Il miglioramento del benessere e della biosicurezza negli allevamenti bovini sarà un passo indispensabile nelle filiere del latte e della carne, da un lato per accrescere la sostenibilità delle aziende zootecniche e dall'altro per garantire ai consumatori le qualità etica ed ambientale, sempre più richieste.

## T03

### Modernizzazione del sistema ispettivo delle carni suine: importanza delle informazioni sulla catena alimentare

Anna Rita Loschi\*

Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino, Matelica (MC), Italy

\*Corresponding author: annarita.loschi@unicam.it

La possibilità che al macello arrivino animali portatori asintomatici di patogeni enterici come *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. e ceppi virulenti di *E. coli*, considerati pericoliprioritari per il loro impatto in sanità pubblica, ha costituito l'elemento fondamentale per un processo di revisione della metodologia ispettiva delle carni e la sua graduale evoluzione verso un sistema basato sull'analisi del rischio. Il fatto che la presenza di questi patogeni non sia associata ad alterazioni anatomopatologiche rilevabili nel corso dell'ispezione post mortem tradizionale e che l'incisione di organi e tessuti può causare cross contamination ha dato l'avvio al processo di revisione della metodologia ispettiva delle carni suggerendo la sola ispezione visiva post mortem. In tale processo di revisione si è reso indispensabile individuare degli indicatori epidemiologici armonizzati. Per garantire la salute del consumatore si suggerisce di effettuare un'accurata preselezione degli animali destinati alla macellazione mirata al raggiungimento di uno stato sanitario tale da permettere la sola ispezione visiva o l'esecuzione di quella tradizionale in base alla categoria di rischio delle partite di animali. Le principali modalità operative, attraverso cui tale preselezione individuale potrebbe essere realizzata, comprendono: un'ispezione ante mortem in allevamento e l'esecuzione di esami di laboratorio sugli animali. Dovranno essere adottate forme più semplici di preselezione collettiva, che si limitino alla valutazione predittiva del grado di rischio sanitario delle singole partite che arrivano al macello, regolando di conseguenza il livello di attenzione ispettiva. Tale obiettivo è raggiungibile attraverso un'accurata raccolta di informazioni in allevamento e al macello. La perdita di alcune informazioni, qualora si proceda alla sola ispezione visiva post mortem, può essere compensata dalla raccolta di altri dati lungo la filiera alimentare da inserire nella documentazione relativa alle informazioni della catena alimentare (ICA). Le ICA dovranno essere implementate in quanto, attualmente, rappresentano una carenza del sistema, non includendo tutti gli indicatori utili a classificare gli animali in relazione al rischio. L'importanza delle ICA risiede nel fatto che informazioni adeguate e dettagliate sulla vita degli animali, nonché sui risultati delle ispezioni ante e post mortem dei soggetti provenienti dallo stesso allevamento macellati in precedenza, consentono di suddividere gli animali in gruppi sulla base del rischio. Al macello dovranno essere raccolti dati utili all'allevatore da riportare nelle ICA aziendali. Dovrà crearsi una sorta di fusione tra le informazioni raccolte al macello e le ICA relative agli animali avviati alla macellazione.

La categorizzazione in base al rischio di gruppi di animali rispetto ai pericoli principali, è considerata un elemento importante nell'ambito del sistema di garanzia della sicurezza delle carni integrato. Tutto ciò ha comportato nella specie suina rilevanti modifiche dei metodi di ispezione delle carni (Reg. UE 216/2014, Reg. UE 217/2014, Reg. UE 218/2014, Reg. UE 219/2014).

#### T04

##### **Nuovi scenari per la molluschicoltura italiana: implicazioni di sanità animale e sicurezza alimentare**

Giuseppe Arcangeli\*

Centro di Referenza Nazionale di Patologia dei Pesci, Molluschi e Crostacei, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD), Italy

\*Corresponding author: garcangeli@izsvenezie.it

L'allevamento di molluschi bivalvi è un settore in costante crescita a livello mondiale. Per alcune peculiarità quali bio-sostenibilità ed eco-compatibilità, anche il futuro è promettente per la possibilità di ottenere a basso impatto ambientale proteine ad alto livello qualitativo. A garanzia della salute degli allevamenti, in Europa da circa 15 anni è in atto un monitoraggio da parte dei servizi veterinari riguardante le principali malattie di ostriche e mitili, le due specie maggiormente allevate. Ultimamente la presenza nelle ostricoltura di una herpesvirus sta creando non pochi problemi, anche in Italia. La ricerca sta dedicando molti sforzi per capire meglio l'interazione ospite-patogeno-ambiente in quanto difficilmente si parla di patogenicità di tipo primario in molluschicoltura, ma spesso si tratta di sindromi a carattere multifattoriale. Un esempio è la perkinsiosi, endemica in Italia nelle venericoltura lagunari, che può essere controllata con un sistema di semina e gestione del prodotto razionale, rispettando la reale produttività delle aree di allevamento. I cambiamenti climatici sono un importante fattore che può ostacolare la molluschicoltura: i repentini cambi di salinità con morie in lagune a seguito di fenomeni alluvionali, l'indebolimento del sistema immunitario per le elevate temperature, il distacco del bisso in mitili per l'aumentata acidità sono solo alcuni esempi. A seconda delle caratteristiche delle acque dove vengono allevati, i bivalvi sono anche potenziali accumulatori di agenti/sostanze nocive per la salute. Virus enterici, batteri, metalli pesanti, biotossine sono oggetto di

monitoraggio continuo per garantire il consumatore. Ci sono però varie sfide aperte su questi fronte: il processo di depurazione, introdotto decenni or sono quando si conosceva solo il problema salmonella/colera, ora va rivisto. Anche l'educazione del consumatore va aggiornata, così come i sistemi di monitoraggio ed allerta, possono essere ulteriormente migliorati. Da ultimo, la possibilità di poter disporre di tipologie di analisi oggi molto sofisticate, può permettere l'applicazione di un'analisi del rischio più precisa, a maggior tutela del consumatore.

#### T05

##### **Indicatori di benessere e modernizzazione dell'ispezione nel settore avicolo**

Pasquale Gaspari\*

Azienda Sanitaria Locale, Cesena (FC), Italy

\*Corresponding author: ccbm@libero.it

Il Veterinario Ufficiale nella visita *ante-mortem* valuta sia lo stato clinico che il rispetto del benessere degli animali legato al carico e trasporto. Gli indicatori principali sul benessere animale sono legati agli animali morti all'arrivo, animali feriti e lesioni plantari. Il numero degli animali morti all'arrivo può essere correlato a vari fattori sia a livello di carico (squadre non adeguatamente formate) oppure di trasporto (stress da temperatura/umidità esterna), mentre le lesioni plantari sono di norma imputabili a scarsa gestione di allevamento. Durante la fase di stordimento (gas o elettrico) un errato approccio sulle concentrazioni del gas o sui parametri della corrente elettrica (Hz e Ampere) possono ripercuotersi su lesioni della carcassa (petto-coscia-ali) nelle successive fasi di macellazione. Nella visita post-mortem i Regolamenti Comunitari prevedono il controllo di tutte le carcasse macellate e dei rispettivi visceri per escludere quanto non idoneo al consumo umano. Il veterinario ufficiale nella sua attività d'ispezione si può avvalere di Assistenti ausiliari Ufficiali o di personale dipendente con una determinata mansione speciale secondo quanto previsto dai Reg. CE 854/04 e Reg. CE 1021/2005. L'esperienza personale ha portato a valutare le figure previste dal Reg. CE 1021/05 con un approccio positivo considerando la loro soddisfazione a ricoprire una mansione così qualificante.

## COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

Giovedì 11 settembre

## C14

**Ottimizzazione dei parametri elettrici di stordimento per il miglioramento delle condizioni di benessere degli animali in un macello avicolo**Mariagrazia Girasole,<sup>1\*</sup> Claudia Chirolo,<sup>1</sup> Marina Ceruso,<sup>1</sup> Lucia Vollano,<sup>1</sup> Antonio Chianese,<sup>2</sup> Maria Luisa Cortesi<sup>1</sup><sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II; <sup>2</sup>Azienda Sanitaria Locale, Napoli, Italy  
\*Corresponding author: mariagrazia.girasole@unina.it

Lo stordimento e il dissanguamento sono sicuramente fasi molto critiche per il benessere animale in un macello avicolo. In tale contesto sono stati condotti test per identificare le migliori combinazioni di parametri elettrici di stordimento che non compromettano al contempo la qualità delle carni. La sperimentazione è stata condotta in un macello avicolo in cui il sistema di stordimento prevede lo stordimento elettrico con bagno d'acqua. La velocità della linea di macellazione è stata regolata in maniera da avere un tempo minimo di permanenza degli animali in vasca di almeno 4 secondi. Al fine di individuare i parametri elettrici ottimali di stordimento, sono state testate correnti a diversa frequenza (in particolare 200, 600 e 750 Hz) e, per ogni frequenza, diversi livelli di tensione. Le tensioni scelte erano tali da generare correnti di stordimento stimate per singolo animale conformi a quelle minime previste dall'Allegato I del Regolamento (CE) 1099/2009. L'eventuale perdurare dello stato di coscienza degli animali all'uscita dello storditore è stato valutato utilizzando quale indicatore di coscienza e, quindi di sensibilità al dolore, la risposta positiva al riflesso corneale. Ciascuna prova è stata condotta su un campione di 100 *broiler* aventi peso variabile dai 3 ai 4,5 kg. Il primo test è stato effettuato applicando una corrente di stordimento a frequenza di 200 Hz ed una tensione ai capi dello storditore di 40 V. Tale tensione consentiva di ottenere una corrente media stimata per ogni animale di 150 mA. Per tali valori dei parametri di stordimento, il 92% degli animali in uscita dallo storditore continuava a presentare il riflesso corneale. Allo scopo di migliorare l'efficacia dello stordimento, è stata aumentata la tensione applicata ai capi dello storditore a valori rispettivamente di 80 e 100 V, mantenendo la frequenza costante a 200 Hz. L'uso di tali valori di tensione ha consentito di abbassare drasticamente la percentuale di animali coscienti all'uscita dallo storditore (25 e 5%, rispettivamente), ma ha prodotto in numerose carcasse, valutate all'uscita dal tunnel di raffreddamento, lesioni consistenti in vasti stravasi ematici e petecchie a livello dei muscoli pettorali e delle cosce. Per evitare tale inconveniente sono state testate correnti a frequenza più alta, di 600 e 750 Hz, con tensioni applicate ai capi dello storditore rispettivamente di 32 e 53 V. Queste hanno consentito di ridurre la percentuale di animali coscienti senza produrre gli effetti negativi sulla qualità della carne ottenuti a basse frequenze. La ricerca dei parametri elettrici ottimali per lo stordimento di *broiler* in un macello avicolo ha permesso di individuare i valori di frequenza e tensione per i quali risultava minima la percentuale di animali coscienti all'uscita dello storditore senza avere lesioni macroscopiche a carico delle carcasse. I risultati migliori sono stati ottenuti per frequenze di 750 Hz e tensioni di 53 V.

## C15

**Valutazione delle caratteristiche igieniche di carcasse di ovini adulti sottoposti a spellatura assistita da insufflazione d'aria**David Ranucci,<sup>1\*</sup> Raffaella Branciarì,<sup>1</sup> Dino Miraglia,<sup>1</sup> Roberta Stocchi,<sup>2</sup> Stefano Rea,<sup>2</sup> Anna Rita Loschi<sup>2</sup><sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Perugia; <sup>2</sup>Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino, Matelica (MC), Italy  
\*Corresponding author: david.ranucci@unipg.it

Scopo del presente lavoro è quello di valutare le caratteristiche igieniche di carcasse di ovini adulti ottenute mediante spellatura con due differenti sistemi, *pulling down* e *Y cut*, con e senza l'ausilio di insufflazione d'aria compressa filtrata. Per ognuno dei 4 sistemi di spellatura sono stati effettuati campionamenti di superficie, con metodo non distruttivo, da quattro siti (petto, spalla, torace e scamone), su 5 carcasse di pecora al giorno in 10 differenti giorni di macellazione. Ulteriori 10 animali per sistema di spellatura sono stati successivamente campionati per valutare la contaminazione superficiale nei singoli siti di prelievo. Sono state effettuate analisi per la conta della carica batterica totale e delle *Enterobacteriaceae* ed è stata ricercata la presenza di *Salmonella* spp. I valori medi giornalieri riscontrati, paragonati con i limiti definiti dal regolamento (CE) 1441/2007, sono risultati soddisfacenti o, in alcuni casi, nel range di accettabilità per tutti i parametri considerati. Non è stata evidenziata la presenza di *Salmonella* spp. Nessuna differenza statisticamente significativa ( $P > 0,05$ ) è stata riscontrata tra carcasse ottenute con e senza insufflazione d'aria, indipendentemente dal metodo di spellatura utilizzato e dal sito di prelievo analizzato. Non è comunque stato evidenziato alcun miglioramento delle caratteristiche igieniche e altri aspetti dovranno essere presi in considerazione nella scelta dell'impiego dell'aria insufflata per la spellatura degli ovini adulti.

## C16

**Ricerca di *Yersinia enterocolitica* in suini al macello mediante tecniche colturali e real time PCR**Rina Mazzette,<sup>1\*</sup> Federica Fois,<sup>1</sup> Simonetta Gianna Consolati,<sup>1</sup> Sara Salza,<sup>2</sup> Tiziana Tedde,<sup>2</sup> Paolo Soro,<sup>3</sup> Carlo Collu,<sup>4</sup> Daniela Ladu,<sup>1</sup> Sebastiano Virgilio,<sup>2</sup> Francesca Piras<sup>1</sup><sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreffi, Sassari; <sup>3</sup>Azienda Sanitaria Locale, Sassari; <sup>4</sup>Azienda Sanitaria Locale, Sanluri (VS), Italy  
\*Corresponding author: rmazzett@uniss.it

*Yersinia enterocolitica* è un patogeno tra i maggiori responsabili di gastroenterite nell'uomo. I suini portatori sono considerati il principale serbatoio del microorganismo e la fonte primaria di ingresso in macello. L'obiettivo della presente indagine è stato quello di valutare la prevalenza di *Y. enterocolitica* in suini macellati in Sardegna. In 4 stabilimenti di macellazione sono stati complessivamente prelevati n.132 campioni, costituiti da tonsille palatine, linfonodi meseraici, contenuto intestinale e superficie delle carcasse. Tutti i campioni sono stati sottoposti alla ricerca quantitativa e qualitativa di *Y. enterocolitica* mediante, rispettivamente, semina diretta in CIN Agar e metodo colturale ISO 10273:2003, modificato. Inoltre, su tutti i brodi di arricchimento e sui ceppi isolati, è stata ricercata la presenza del gene *ail* mediante *real time PCR*. La prevalenza com-

plussiva di *Y. enterocolitica* è risultata pari al 19% mediante semina diretta e al 12% mediante semina dopo arricchimento selettivo. In particolare alla semina diretta è stata rilevata una prevalenza del 6,8% nel contenuto intestinale, 5,3% nelle tonsille e sulla superficie delle carcasse e 1,5% nei linfonodi. Il livello medio di contaminazione è risultato pari a  $3,2 \times 10^3$  UFC/g nelle tonsille e al  $8,7 \times 10^2$  UFC/g sulla superficie delle carcasse. La prevalenza di *Y. enterocolitica* riscontrata mediante il metodo qualitativo è stata pari a 5,3% sulla superficie delle carcasse, al 3,8% nel contenuto intestinale, al 2,2% nelle tonsille e allo 0,8% nei linfonodi. L'applicazione della *real time PCR* ha evidenziato una prevalenza complessiva del gene *ail* pari al 9,8%. In particolare la presenza del gene *ail* mediante *real time PCR* è stata riscontrata nel 7,5% dei campioni di tonsille. Inoltre, 10 campioni (1 linfonodo, 2 superfici di carcasse e 7 tonsille) sono risultati positivi solo alla ricerca del gene *ail* e negativi agli altri metodi. Infine il 29,4% dei ceppi saggiati sono risultati positivi alla ricerca del gene *ail*. I risultati confermano quanto riportato da altri autori relativamente alla maggiore sensibilità della *real time PCR* rispetto ai metodi colturali nella determinazione della *Y. enterocolitica* patogena nelle tonsille. Nel complesso la presenza di *Y. enterocolitica* nei suini macellati in Sardegna è risultata relativamente contenuta. Il suo riscontro nelle superfici delle carcasse evidenzia tuttavia la necessità di applicare adeguate misure igieniche per prevenire l'ingresso di soggetti portatori e controllare la diffusione al macello.

## C17

### Prevalenza di *Salmonella* in relazione ai parametri di igiene di processo in suini al macello e ambienti di macellazione

Francesca Piras,<sup>1\*</sup> Federica Fois,<sup>1</sup> Roberta Mazza,<sup>1</sup> Miriam Putzolu,<sup>1</sup> Maria Luisa Delogu,<sup>2</sup> Pier Giorgio Lochi,<sup>3</sup> Sergio Pino Pani,<sup>3</sup> Rina Mazzette<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari; <sup>2</sup>Azienda Sanitaria Locale, Sassari; <sup>3</sup>Azienda Sanitaria Locale, Sanluri (VS), Italy  
\*Corresponding author: fpiras@uniss.it

Lo scopo del presente studio è valutare la prevalenza e i serotipi di *Salmonella* in suini al macello e ambienti di macellazione. Valutare la contaminazione superficiale delle carcasse di suini al macello attraverso la determinazione dei parametri di igiene di processo e comparare i risultati con i criteri previsti dal Reg. CE 2073/2005. Presso sette macelli suini sono stati prelevati campioni di linfonodi mesenterici, contenuto del colon, superficie della carcassa e superficie epatica da 25 suinetti lattonzoli e 61 magroni. Inoltre, sono stati prelevati campioni di acqua di scottatura e dalle superfici a contatto (SC: attrezzature per il sezionamento e la depilazione) e non (SNC: canaletta, pareti della zona sporca e della zona pulita) con le carni. Per la ricerca di *Salmonella* è stata utilizzata la metodica ISO 6579/2002 e gli isolati sono stati sottoposti a serotipizzazione. Sono stati inoltre determinati la conta delle colonie aerobiche (CCA, ISO 4833) e le *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-2) sulla superficie delle carcasse e su SC e SNC. *Salmonella* non è stata isolata da nessuno dei campioni prelevati dai suinetti mentre è stata isolata nel 15,9% dei campioni prelevati dai suini adulti (39/244) e nel 8,9% (4/45) dei campioni prelevati dagli ambienti. Tra le matrici animali, la prevalenza più elevata è stata riscontrata nelle carcasse (18%), seguite dal contenuto del colon (14,8%), linfonodi (13%) e superficie epatica (1,6%) ed è risultata differen-

te ( $P < 0.5$ ) tra i diversi stabilimenti. La prevalenza complessiva tra i campioni prelevati dagli ambienti è risultata del 11% (3/27) per le SNC e del 5,5% (1/18) per le SC. Il serotipo prevalente tra i ceppi isolati dai campioni animali è stato S.Anatum (71,8%), seguito da S.Derby (33,3%), S.Bredeney (5%) e S.Holcomb (2,5%). Tra i ceppi isolati dagli ambienti, sono stati identificati S.Anatum (50%), S.Bredeney e S.Derby (25%). I parametri di igiene di processo ( $\log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup>) riscontrati sulla superficie delle carcasse sono risultati, quasi in tutti i casi, superiori ai criteri previsti dal Reg. Ce n.2073/2005. La CCA ha infatti mostrato valori compresi tra 4,6 e 5,7 nei suinetti e 4,6 e 5,9 nei magroni. Per le *Enterobacteriaceae* i livelli medi erano compresi tra 1,1 e 5 per i suinetti e tra 2,1 e 5,3 per gli adulti. Anche i livelli medi della CCA e delle *Enterobacteriaceae* degli ambienti sono risultati elevati, soprattutto se si considerano le superfici a contatto con le carni (attrezzature per il sezionamento). I risultati confermano l'importanza del ruolo dei suini portatori di *Salmonella* come fonte di ingresso del patogeno al macello. I livelli medi riscontrati, soprattutto in alcuni stabilimenti, sia della CCA che delle *Enterobacteriaceae* a livello della superficie della carcassa e sulle superfici a contatto e non con le carni, sono indice di una non adeguata applicazione delle misure di igiene (GMP, GHP), sia durante il processo che nel corso delle procedure di pulizia e sanitizzazione.

## C18

### Il nuovo destino e la possibilità d'impiego delle carni provenienti da macellazione d'urgenza

Leonardo Carosielli,<sup>1\*</sup> Alfonso Rosamilia,<sup>2</sup> Massimo Renato Micheli<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Azienda Sanitaria Locale, Foggia; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna B. Ubertini, Reggio Emilia; <sup>3</sup>Azienda Sanitaria Locale, Modena, Italy

\*Corresponding author: leonardocarosielli@virgilio.it

Il regolamento (UE) n.218 del 7 marzo 2014, modificando parti degli allegati ai regolamenti (CE) n.853/2004 e n.854/2004 relativi all'identificazione e al destino delle carni provenienti da animali sottoposti a macellazione non-ordinaria al di fuori del macello riconosciuto, in applicazione dal 1° giugno 2014, apre nuove opportunità alla commercializzazione e all'impiego di tali carni. Vincoli e restrizioni per una vendita responsabilmente condizionata erano stati posti anche dai regolamenti n. 853 e n. 854 del 2004 che prevedevano l'uso di un bollo sanitario speciale per le carni derivanti da macellazione d'urgenza e l'immissione sul mercato soltanto nello Stato membro in cui si effettuava la macellazione.

## C19

### Abbattimento della contaminazione da *Listeria innocua* in prosciutto, pancetta e salame confezionati sottovuoto tramite trattamento con alte pressioni idrostatiche

Giuseppe Meriardi,<sup>1\*</sup> Mattia Ramini,<sup>1</sup> Emanuela Ravanetti,<sup>2</sup> Giorgio Gherri,<sup>2</sup> Paolo Bonilauri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna B. Ubertini, Brescia; <sup>2</sup>Prosciuttificio San Michele Srl, Lesignano (PR), Italy

\*Corresponding author: giuseppe.meriardi@izsler.it

Il presente lavoro ha lo scopo di presentare i risultati dell'applica-

zione di un trattamento con alte pressioni idrostatiche (HHP) su prodotti di salumeria italiana, valutando l'efficacia di abbattimento della contaminazione superficiale e profonda da *Listeria innocua* come surrogato di *Listeria monocytogenes*. Lo studio è stato condotto su tranci di prosciutto crudo, tranci di pancetta e di salami, confezionati sotto vuoto, provenienti da una azienda di trasformazione e su salami prodotti in ambiente sperimentale a partire da un impasto prodotto dalla medesima azienda. Sono stati inoculati 5 ceppi di *L. innocua*, 4 isolati da prodotti a base di carne suina o in stabilimenti di trasformazione e uno di collezione. Sono state allestite due prove: per la prima prova è stata allestita una contaminazione superficiale di un lotto dei 3 prodotti di salumeria, tramite immersione per 3 min nel brodo di coltura con un livello di contaminazione di almeno 9 log ufc/mL di un inoculo. Al termine dell'immersione i pezzi sono stati lasciati asciugare a temperatura ambiente e quindi ri-confezionati sottovuoto. La seconda prova ha previsto una contaminazione profonda dell'impasto di salame tipo felino con un inoculo contenente i 5 ceppi opportunamente diluiti e aggiunti omogeneamente all'impasto. L'impasto è stato quindi insaccato e si è proceduto alla produzione e stagionatura dei salami. Successivamente 10 campioni per prodotto e per prova, sono stati suddivisi casualmente in 2 gruppi da 5 pezzi: i) gruppo TH, campioni sottoposti a trattamento con HHP (6000 bar, 360 sec, T 12-13°C); ii) gruppo C, campioni di controllo. Tutti i campioni sono stati analizzati per la determinazione della carica superficiale e profonda di *L. innocua*. Su 3 porzioni dei prodotti del gruppo C è stata effettuata la determinazione di pH e Aw. Per ogni prodotto testato la differenza tra le mediane dei log UFC/cm<sup>2</sup> rilevate tra i controlli ed i trattati sono state comparate tramite test non parametrico (Kruskal-Wallis test) con P<0,01. Nei tranci sottovuoto l'abbattimento ottenuto nei trattati, misurato come log(N/NO), è risultato uguale a -2,29, -2,54 e -2,51 in prosciutto, pancetta e salame rispettivamente, mentre nel salame prodotto sperimentale l'abbattimento è risultato pari a -2,76. Tutte le differenze sono risultate statisticamente significative. Il presente lavoro si proponeva di valutare un trattamento di natura non termica, volto alla riduzione della contaminazione da *L. monocytogenes*, su prodotti di salumeria italiani che possono essere destinati anche all'esportazione in USA. I risultati di questa sperimentazione, necessitano di essere confermati su prodotti differenti e su di un numero maggiore di lotti, ma appaiono, anche in ragione della notevole letteratura disponibile per prodotti differenti (formaggi, ortaggi e frutta), molto promettenti.

## C20

### Studio di *shelf life* di due insaccati crudi altoatesini confezionati sottovuoto

Mariachiara Armani,<sup>1\*</sup> Michela Rabin,<sup>1</sup> Evelin Oberkalmsteiner,<sup>1</sup> Albino Gallina,<sup>2</sup> Manfred Fill,<sup>3</sup> Kurt Leggeri,<sup>4</sup> Dorothea Lombardo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Bolzano; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD); <sup>3</sup>Scuola Professionale Provinciale Alberghiera ed Alimentare, Bressanone (BZ);

<sup>4</sup>Associazione Provinciale Artigianato - Sezione Alimentare, Bolzano, Italy

\*Corresponding author: marmani@izsvenezie.it

L'entrata in vigore, nel 2006, dei regolamenti europei che costituiscono il cosiddetto Pacchetto Igiene ha rappresentato una rivoluzione nel settore agro-alimentare. Il Reg. CE 2073/2005, oltre a definire i criteri di sicurezza alimentare e di igiene di processo, stabilisce come gli stessi criteri debbano essere rispettati per tutto il periodo di conservabilità del prodotto. Da qui scaturisce la necessità per i produttori di applicare tecniche scientifiche nuove per il calcolo del tempo di conservazione (*shelf life*) dei propri prodotti. La necessità dei macellai di essere orientati nella determinazione della conservabilità di alcuni loro prodotti ha spinto l'associazione di categoria della provincia di Bolzano a richiedere uno studio di *shelf life* per un prodotto tradizionale a base di carne, l'*Hauswurst*. Al fine di valutare se la conservabilità attribuita soggettivamente dai macellai agli *Hauswürste* fosse in accordo con i risultati ottenuti dalle analisi microbiologiche, chimico-fisiche e dalla valutazione sensoriale sono stati analizzati due lotti per due tipologie di *Hauswürste*, ovvero una prodotta con l'aggiunta di additivi ad azione conservante e una senza. Durante la seconda settimana di valutazione sensoriale è stato notato un decadimento delle caratteristiche organolettiche dell'*Hauswurst* prodotto senza aggiunta di additivi conservanti. I parametri microbiologici indicatori di sicurezza alimentare (*Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*) e di igiene di processo rivelano per entrambi i prodotti caratteristiche igienico-sanitarie soddisfacenti. Le moderate cariche di Enterobatteri quantificate escludono che la contaminazione sia di origine fecale, non essendo mai stati rinvenuti *E. coli*. La contaminazione semmai è di tipo ambientale e da attribuire all'elevata manipolazione a cui vengono sottoposti i prodotti per la loro preparazione. Dal punto di vista chimico gli *Hauswürste* prodotti senza aggiunta di additivi hanno mostrato un degrado abbastanza immediato, sia della componente proteica sia in quella grassa, mentre gli *Hauswürste* prodotti con l'aggiunta di additivi sono risultati più stabili nel tempo. Considerando i risultati ottenuti nello studio di *shelf life* è possibile attribuire ai vari prodotti i seguenti termini minimi di conservazione: 7 giorni all'*Hauswurst* prodotto senza aggiunta di additivi conservanti e 14 all'*Hauswurst* prodotto con additivi conservanti.

Venerdì 12 settembre

C21

### Basi scientifiche della sicurezza alimentare del Parmigiano Reggiano

Marco Nocetti,<sup>1</sup> Valentina Pizzamiglio,<sup>1</sup> Elena Cosciani-Cunico,<sup>2</sup> Paolo Daminelli<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Consorzio del Formaggio Parmigiano Reggiano, Reggio Emilia; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, B. Ubertini, Brescia, Italy

\*Corresponding author: paolo.daminelli@izsler.it

Il Parmigiano Reggiano è un prodotto la cui produzione con modalità riferibili a quelle attuali risale almeno ad otto secoli fa mentre nella forma attuale la produzione è codificata e regolata dal Consorzio di tutela fin dagli anni '50. Se esistono preoccupazioni sulla sicurezza di taluni formaggi molli e semiduri a latte crudo, è acclarata da tempo, anche da specifiche indagini epidemiologiche indipendenti, la sicurezza dei formaggi a pasta dura come il Parmigiano Reggiano; ciò che rende sicuro il Parmigiano Reggiano è l'effetto sinergico di sistemi enzimatici antimicrobici attivi nel latte crudo, la scomparsa dei substrati zuccherini associata alla veloce acidificazione, la elevata temperatura cui viene cotta la cagliata, la salatura e la progressiva diminuzione dell'attività dell'acqua. Per validare in modo specifico i dati microbiologici sopra descritti, per verificare cioè sperimentalmente la effettiva capacità del processo produttivo del Parmigiano Reggiano di bonificare il prodotto dalla eventuale presenza di patogeni, sono state eseguite varie prove sperimentali, finalizzate a supportare scientificamente l'insieme del processo di produzione del Parmigiano Reggiano, focalizzando l'attenzione sulle fasi più importanti del processo produttivo: l'affioramento del latte in caldaia, la fase di cottura e giacenza sotto siero della cagliata, la stagionatura. I fattori chiave che impediscono la sopravvivenza dei batteri potenzialmente patogeni nel Parmigiano Reggiano sono la temperatura raggiunta nella fase di cottura (55°C e anche oltre), la permanenza della cagliata sotto siero a questa temperatura per circa 60 minuti e il rapido sviluppo dei batteri lattici termofili, che determinano un repentino abbassamento del pH nelle prime ore dopo la caseificazione ed esercitano un forte antagonismo competitivo nei confronti delle altre specie microbiche. L'utilizzo e l'elaborazione dei dati tecnologici di processo mediante l'impiego di modelli matematici di microbiologia predittiva, ha permesso la validazione del processo di produzione del Parmigiano Reggiano definendone parametri di sicurezza igienico sanitaria spendibili a livello internazionale. La tecnologia di trasformazione, dove questi fattori si combinano e agiscono in sinergia, unitamente alla buona qualità microbiologica del latte, prodotto con l'applicazione di rigorosi disciplinari, garantisce l'assoluta sicurezza igienica del Parmigiano Reggiano e ne permette dunque l'esportazione nel mondo, nel rispetto dei più rigorosi criteri igienico sanitari.

C22

### Qualità microbiologica di formaggi freschi italiani artigianali ottenuti da latte non pastorizzato

Erica Tirloni,\* Simone Stella, Cristian Bernardi

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

\*Corresponding author: erica.tirloni@unimi.it

I formaggi prodotti a partire da latte crudo, soprattutto se artigianali, vengono spesso percepiti dal consumatore come alimenti a rischio igienico: in questo studio è stata svolta una valutazione microbiologica di 6 differenti tipologie di formaggi artigianali a latte crudo prodotti presso un piccolo stabilimento sito in Lombardia. Pur in assenza di patogeni, sono state rilevate conte batteriche generalmente elevate. L'81,25% dei formaggi freschi (robiola, crescenza, primo sale e formaggella) e il 50% dei formaggi a pasta filata (mozzarella e burrata) mostravano cariche batteriche totali superiori a 6 Log UFC/g. I campioni di crescenza sono risultati avere le cariche maggiori, mentre i formaggi a pasta filata, grazie al processo di filatura, mostravano cariche totali più contenute (5,5-6,1 Log UFC/g). Cariche elevate di *Escherichia coli*, Stafilococchi coagulasi-positivi e *Pseudomonas* spp. sono state rilevate con elevata frequenza; i lieviti mostravano cariche più alte nei formaggi freschi (5,5±0,5 Log CFU/g) rispetto alle paste filate (3,2±0,1 Log CFU/g). La riduzione della permanenza dei prodotti sui banchi refrigerati, soprattutto nella stagione calda, dovrebbe essere suggerita al fine di evitare che le cariche microbiche raggiungano livelli critici per l'accettabilità da parte dei consumatori, in associazione al miglioramento delle buone pratiche di lavorazione al fine di migliorare la qualità dei prodotti.

C23

### Indagine sulla presenza di *Listeria monocytogenes* in campioni ambientali prelevati in caseifici della provincia di Sassari

Giovanni Terrosu,<sup>1\*</sup> Antonio Fadda,<sup>2</sup> Giorgio Frongia,<sup>2</sup> Antonietta Sanna,<sup>2</sup> Rita Melillo<sup>1</sup>, Antonio Fadda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Igiene degli alimenti, Laboratorio Microbiologia del Latte e Derivati, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreffi, Sassari; <sup>2</sup>Servizio di Igiene degli Allevamenti delle Produzioni Zootecniche, Azienda Sanitaria Locale, Sassari, Italy

\*Corresponding author: giovanni.terrosu@izs-sardegna.it

*Listeria monocytogenes* viene isolata frequentemente dall'ambiente degli stabilimenti di produzione della filiera latte e può persistere sulle superfici dei caseifici anche in seguito a ripetute sanificazioni, in quanto è un microrganismo che riesce a proliferare agevolmente in diversi ambienti del caseificio, soprattutto in quelli caratterizzati da un ambiente freddo e con alti tassi di umidità. Negli ultimi anni si sono verificate diverse notifiche al Sistema di Allerta Rapido RASFF dovute alla contaminazione di Ricotte salate da parte di *L. monocytogenes*. A seguito di questi fatti, più precisamente per far fronte alle allerte dell'anno 2012, l'Autorità Competente rappresentata dall'Azienda Sanitaria Locale (ASL n. 1) della Provincia di Sassari, ha predisposto, in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, un piano di monitoraggio ambientale al fine di verificare l'affidabilità delle analisi effettuate in autocontrollo dai caseifici come loro richiesto dal Reg. (Ce) 2073/05. Nel 2014 sono stati esaminati n. 665 campioni di superficie provenienti da n. 50 caseifici della Provincia di Sassari. Gli esami eseguiti prevedevano l'utilizzo del metodo della presenza/assenza (Norma UNI EN ISO 11290-1:2005) per la ricerca di *L. monocytogenes*. Sono state riscontrati casi di non conformità in n. 5 stabilimenti (10%). Sono risultati positivi per *L. monocytogenes* n.8 campioni. Le azioni correttive apportate consistevano soprattutto in

attività di sanificazione, che da successivi controlli si sono dimostrate sempre efficaci. In definitiva si può affermare che i piani di autocontrollo erano tali da gestire le non-conformità con misure correttive adeguate.

## C24

### Cambiamenti microbiologici e chimico-fisici durante il processo produttivo di un formaggio italiano prodotto con latte crudo di capra

Elena Dalzini,<sup>1\*</sup> Elena Cosciani-Cunico,<sup>1</sup> Chiara Sfameni,<sup>1</sup> Paola Monastero,<sup>1</sup> Paolo Daminelli,<sup>1</sup> Marina Nadia Losio,<sup>2</sup> Giorgio Varisco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro di Referenza Nazionale per i Rischi Emergenti in Sicurezza Alimentare, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna B. Ubertini, Brescia, Italy; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna B. Ubertini, Brescia, Italy

\*Corresponding author: elena.dalzini@izsler.it

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare le dinamiche microbiche dei principali gruppi batterici durante il processo produttivo di Formaggelle di capra Italiane prodotte con latte crudo. Per valutare la variabilità dei parametri microbiologici e chimico-fisici, tre distinte caseificazioni di formaggella di capra sono state eseguite da Settembre a Ottobre 2012. I formaggi sono stati prodotti con latte intero crudo di capra e le caseificazioni sono state condotte nella stessa azienda agricola. Tre campioni di latte, cagliata e formaggio a 3, 7, 11, 14, 21 e 30 giorni di stagionatura, sono stati prelevati durante ciascuna replica di caseificazione e analizzati per la numerazione dei principali gruppi microbici (mediante metodi ISO) e per la rilevazione del pH e della temperatura di processo. I valori medi di conta della carica batterica totale e di *Enterobacteriaceae* nel latte crudo sono risultati rispettivamente di  $5,27 \pm 0,57$  e  $3,8 \pm 1,02$  Log ufc/mL. I batteri lattici rappresentano il gruppo microbico predominante durante la caseificazione e la stagionatura del formaggio, con differente sviluppo in base al terreno colturale utilizzato per la numerazione (M17 e MRS agar). I diversi gruppi microbici indagati hanno mostrato livelli variabili fra le tre repliche di caseificazione. È stata osservata invece una correlazione tra la presenza di livelli elevati di *Enterobacteriaceae* nel latte raccolto durante la replica n. 2 e la presenza di altri contaminanti microbici come *Escherichia coli* -glucuronidasi-positivi e stafilococchi coagulasi-positivi. Nella replica n. 2, la concentrazione di *E. coli* nel latte è risultata pari a  $5,07 \pm 0,03$  Log ufc/mL, con un aumento di circa 1 log durante il processo fino all'ultima settimana, quando il livello è sceso a  $5,69 \pm 0,2$  Log ufc/mL. Nella seconda replica studiata, il latte è risultato essere contaminato anche da Stafilococchi coagulasi-positivi ( $3,18 \pm 0,06$  Log ufc/mL), ma il comportamento di questo gruppo è apparso molto dinamico e variabile durante il processo produttivo. In questo lavoro è stata eseguita una prima fase di controllo di processo e di studio dei principali gruppi microbici, e le fasi di processo della formaggella di capra sono state registrate sul sito web [www.ars-alimentaria.it](http://www.ars-alimentaria.it), il sito italiano, supportato dal Ministero della Salute, che promuove l'identità, la qualità e la sicurezza dei prodotti e dei processi produttivi in Italia.

## C25

### Comportamento di *Listeria monocytogenes* ed *Escherichia coli* O157:H7 durante la caseificazione e la stagionatura di formaggi a latte crudo tipici delle Alpi italiane

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

<sup>1</sup>Centro di Referenza Nazionale per i Rischi Emergenti in Sicurezza Alimentare, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna B. Ubertini, Brescia; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna B. Ubertini, Brescia, Italy

\*Corresponding author: elena.coscianicunico@izsler.it

Nel database del Sistema di Allarme Rapido per alimenti e Mangimi (RASFF) creato dalla CE, sono riportate 55 allerte relative alla presenza di *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* verocitotossico (VTEC) in formaggi a latte crudo prodotti negli ultimi 10 anni. Questi prodotti infatti, ottenuti da latte non sottoposto ad alcun trattamento termico di sanificazione e caratterizzati dalla cottura della cagliata a temperature inferiori di 48°C, sono noti per essere i più frequentemente contaminati. Inoltre, è documentato che i formaggi a latte crudo, con un breve periodo di stagionatura (inferiore a 60 giorni) potrebbero generare gravi focolai epidemici. Pertanto, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di studiare il comportamento di questi patogeni durante il processo produttivo due tipologie di formaggio italiano. Attraverso studi di *challenge test*, il comportamento di *L. monocytogenes* ed *E. coli* O157:H7 è stato studiato durante la caseificazione e la stagionatura di formaggi d'Alpe italiani prodotti da latte crudo, ottenuti senza colture starter. La prima tipologia di formaggio è caratterizzata da una breve stagionatura (60 giorni) e dall'assenza di trattamento di cottura della cagliata; mentre, la seconda tipologia di formaggio prevede una stagionatura più lunga (120 giorni) ed un trattamento termico della cagliata (45°C per 15 min). I formaggi sono stati prodotti, con l'ausilio e le indicazioni tecniche dei produttori ([www.ars-alimentaria.it](http://www.ars-alimentaria.it)) nell'impianto pilota presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna. Oltre alle forme non contaminate, di controllo, sono state prodotte alcune forme con latte artificialmente contaminato. Il latte crudo è stato separatamente inoculato con una miscela di 3 ceppi di *L. monocytogenes* ed *E. coli* O157:H7 ad una concentrazione di circa 4 Log ufc/mL per patogeno. La concentrazione dei patogeni è aumentata di più di 1 Log ufc/g durante i primi giorni di processo e, successivamente, o è rimasta pressoché costante fino al termine della stagionatura (*L. monocytogenes* in entrambe le tipologie di formaggi ed *E. coli* O157:H7 nel formaggio d'Alpe a breve stagionatura) o diminuisce di circa 6 Log ufc/g (*E. coli* O157:H7 nel formaggio d'Alpe a lunga stagionatura). I risultati indicano che l'ambiente e la natura dei microrganismi patogeni influenzano diversamente la concentrazione dei batteri durante la caseificazione e la stagionatura dei formaggi. Conoscere le variabili intrinseche ed estrinseche che caratterizzano questi due formaggi tradizionali italiani prodotti in alpeggio, permette di validare i modelli dinamici predittivi pubblicati in letteratura attraverso i dati presentati in questo studio.

## C26

### Valutazione quantitativa del rischio di sopravvivenza di *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* nel latte pastorizzato in tre stabilimenti lattiero-caseari in Italia

Paolo Bonilauri,<sup>1\*</sup> Andrea Serraino,<sup>2</sup> Norma Arrigoni,<sup>3</sup> Fabio Ostanello,<sup>2</sup> Matteo Ricchi,<sup>3</sup> Federica Giacometti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Reggio Emilia; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO); <sup>3</sup>Centro di Referenza Nazionale per la Paratuberculosis, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Sezione di Piacenza, Gariga di Podenzano (PC), Italy  
\*Corresponding author: paolo.bonilauri@izsler.it

L'obiettivo del lavoro è stato di effettuare una valutazione quantitativa del rischio (QRA) di sopravvivenza di *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP) nel latte alimentare pastorizzato prodotto in stabilimenti industriali. I dati sono stati raccolti in tre stabilimenti industriali (A, B e C) presenti in tre diverse regioni italiane che trasformano rispettivamente 38,75 (A), 89,29 (B) e 190,56 (C) milioni di litri di latte annuali; nello specifico, gli stabilimenti A e C producono latte pastorizzato, formaggi industriali molli e duri e yogurt, mentre l'impianto B solo latte pastorizzato. Campioni di filtri degli impianti di mungitura (ILMF) e/o di latte di massa (BTM) sono stati raccolti da tutti i 569 allevamenti che forniscono il latte ai tre stabilimenti lattiero-caseari. I campioni sono stati analizzati mediante real-time PCR quantitativa (qPCR). Il presente QRA ha considerato la presenza di MAP in ILMF e BTM di tutti gli allevamenti da latte che forniscono il latte ai tre stabilimenti lattiero-caseari indagati, stimando, sulla base di questi dati, la concentrazione di MAP nel latte crudo, l'effetto di diluizione dovuto alla miscelazione del latte nei camion di raccolta e nei silos di stoccaggio, e l'effetto della pastorizzazione nel ridurre la concentrazione di MAP. La frazione stimata di litri di latte pastorizzato con 0 MAP risulta rispettivamente pari a 99,02, 99,45 e 99,12% negli stabilimenti A, B e C, e una percentuale complessiva variabile tra 0,55 e 0,98% di latte pastorizzato con contaminazione da MAP > 0 unità formanti colonia (CFU)/L ed infine tra 0,04% e 0,11% con contaminazione da MAP > 100 UFC/L. Una variazione giornaliera è stata osservata nella proporzione dei litri di latte MAP-contaminati. Il presente studio dimostra come il latte negli stabilimenti investigati può essere una fonte di esposizione di MAP per l'uomo. La prevalenza apparente di MAP tra le aziende ed intra-aziendale nelle aree indagate risultano verosimilmente comparabili a quelle relative ad altre zone in Italia, Europa e Nord America, ed conseguentemente tali risultati sono applicabili anche ad altre aree geografiche.

## C27

### Analisi comparativa di profili di tipizzazione di ceppi di *Salmonella enterica* sierotipo *Enteritidis* ottenuti mediante MLVA, PFGE e ribotipizzazione automatica

Alessandra De Cesare,<sup>1\*</sup> Antonio Parisi,<sup>2</sup> Alex Lucchi,<sup>1</sup> Angela Miccolupo,<sup>2</sup> Federica Palma,<sup>1</sup> Antonia Ricci,<sup>3</sup> Gerardo Manfreda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Putignano (BA); <sup>3</sup>Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD), Italy

\*Corresponding author: alessandra.decesare@unibo.it

Nel presente studio è stata valutata comparativamente l'efficacia di tre metodiche di tipizzazione genotipica, rappresentate da *multiple loci variable-number tandem repeat analysis* (MLVA), *pulsed field gel electrophoresis* (PFGE) e ribotipizzazione automatica, nella discriminazione di ceppi di *Salmonella enteritidis* isolati da alimenti, ambiente ed uomo al fine di valutarne la similarità genetica in rela-

zione ad origine, anno di isolamento e fagotipo. L'analisi comparativa ha riguardato 106 ceppi di *Salmonella enterica* sierotipo enteritidis di fagotipo noto, isolati da alimenti di origine animale (59,4%), ambientale (12,2%) ed umana (28,3%) tra il 2008 ed il 2012. L'analisi MLVA è stata effettuata sui loci SE3, SENTER 4, SENTER 5, SENTER 6, SENTER7; l'analisi PFGE mediante enzima XbaI; la ribotipizzazione automatica mediante digestione combinata con PvuII e PstI. I profili di tipizzazione ottenuti con le tre metodiche sono stati sottoposti ad analisi cluster con software Bionumerics e confrontati con i dati di fagotipizzazione dei ceppi quando disponibili. I ceppi analizzati sono stati classificati in 14 MLVA tipi comuni ad un numero di isolati variabile da 2 a 30 ed in 11 MLVA tipi associati ad un singolo ceppo. L'analisi cluster ha raggruppato i profili MLVA in 7 cluster principali, uno dei quali comune al 40% dei ceppi analizzati, provenienti dalla maggior parte delle fonti studiate. Mediante PFGE i ceppi sono stati classificati in 6 pulsotipi comuni ad un numero di isolati variabile da 2 a 55 ed in 11 pulsotipi identificati in ceppi singoli. Il numero di cluster tra i pulsotipi è risultato identico a quello ottenuto mediante MLVA. Inoltre, per i pulsotipi il cluster più numeroso raggruppava il 50% dei ceppi studiati. Mediante ribotipizzazione con PvuII-PstI i ceppi sono stati classificati in 7 ribogruppi diversi formati da 6 a 10 bande. Tra i ribogruppi identificati, tre sono risultati associati ad un numero di ceppi variabile da 4 a 67 mentre quattro sono stati associati soltanto ad un isolato. L'analisi cluster ha raggruppato i profili di ribotipizzazione in nove clusters ed il più rappresentativo raggruppava il 30% dei ceppi. L'analisi comparativa dei risultati ottenuti mediante MLVA e PFGE, che si sono rivelate le metodiche maggiormente discriminanti, ha evidenziato che il maggior numero di isolati di origine umana clusterizzava con ceppi da uova, carne di pollo, carne di tacchino, ambiente, latte e derivati, molluschi, pasta fresca e pasticceria. Infine ha evidenziato diversità genetica tra ceppi appartenenti allo stesso fagotipo. *Salmonella enteritidis* è un sierotipo geneticamente omogeneo e la discriminazione di ceppi diversi è fondamentale per le analisi epidemiologiche. I risultati di questo studio hanno mostrato che il metodo MLVA messo a punto in questa ricerca, ha una capacità discriminante superiore in confronto alla PFGE effettuata con l'enzima di restrizione XbaI ed alla ribotipizzazione con PvuII e PstI. I risultati ottenuti hanno confermato l'origine prettamente alimentare dell'infezione da *Salmonella enteritidis* nell'uomo e hanno dimostrato diversità genetica di ceppi appartenenti allo stesso fagotipo.

## C28

### Il formaggio Maiorchino: specificità fisico-chimiche ed igienico-sanitarie

Francesca Conte,<sup>1\*</sup> Andrea Ravidà,<sup>2</sup> Alessandro Mandanici,<sup>3</sup> Vincenzo Ferrantelli,<sup>4</sup> Michele Chetta,<sup>4</sup> Antonella Verzera<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Messina; <sup>2</sup>Azienda Sanitaria Provinciale, Messina; <sup>3</sup>Medico Veterinario, Libero professionista, Messina; <sup>4</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo; <sup>5</sup>Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Messina, Italy

\*Corresponding author: fconte@unime.it

Sono state studiate le caratteristiche fisiche, chimiche e microbiologiche del Maiorchino (M), formaggio tradizionale prodotto esclusivamente con latte ovino o con aggiunta di latte caprino. I campioni sono stati esaminati dopo 20 giorni (campione n. 1) 6, 8, 12, 17 e 24 mesi di stagionatura. I campioni stagionati erano caratterizza-

ti da una minore percentuale in grasso, proteine totali, solidi totali e cloruri (NaCl), rispetto al campione n. 1; viceversa, i valori di pH, aw e di umidità (%) erano inferiori; tali fenomeni sono stati posti in relazione con il periodo di stagionatura dei formaggi. La percentuale di umidità subiva un decremento durante la maturazione, con valori maggiormente ridotti nei formaggi stagionati per 24 mesi, come è usuale per i formaggi a pasta dura. Il campione n. 1 mostrava elevate quote di batteri mesofili e di enterobatteri; i valori erano più contenuti per stafilococchi e lieviti. Non sono stati riscontrati microrganismi anaerobi solfito-riduttori. I livelli di batteri lattici mesofili (BL30) e termofili (BL42) erano elevati nella maggioranza dei campioni, riducendosi nei formaggi stagionati per 17 e 24 mesi. I BL42 sono prevalenti durante il processo di lavorazione del M, nonché nel corso della stagionatura, per effetto della cottura della cagliata. I lieviti riscontrati nel formaggio sono stati inclusi nella microflora tipica del M. La componente volatile aromatica è stata determinata, per i formaggi a 6, 12 e 24 mesi di stagionatura, mediante micro-estrazione in fase solida/gascromatografia associata a spettrometria di massa (SPME/GC-MS); sono stati identificati 50 composti: acidi grassi, esteri, d-lattoni, chetoni, furani, aldeidi, alcoli alifatici ed aromatici, idrocarburi e terpeni. L'analisi statistica dei dati ha mostrato che, durante la stagionatura, le quote della maggior parte di acidi grassi subivano un aumento fino a 12 mesi; tale periodo di stagionatura contribuisce a rendere il M molto gradevole da un punto di vista sensoriale. I BL sono stati considerati i principali responsabili delle variazioni dei parametri chimici e della componente volatile nel corso della stagionatura del formaggio. La caratterizzazione del M può essere considerata importante per tutela della biodiversità e di tale antico formaggio tradizionale; è, altresì, importante garantire un sostegno per rendere competitivo il M, al fine di ottenerne il riconoscimento come formaggio a Denominazione di Origine Protetta (DOP).

## C29

### Effetto di colture *starter* selezionate di origine lattiero-casearia e di probiotici sulle caratteristiche microbiologiche, chimiche e sensoriali di salami

Paola Sechi,<sup>1</sup> Maria Francesca Iulietto,<sup>1</sup> Sara Mattei,<sup>1</sup> Sara Novelli,<sup>1</sup> Giovanna Traina,<sup>2</sup> Michela Codini,<sup>2</sup> Beniamino Terzo Cenci-Goga<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Perugia; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Perugia, Italy

\*Corresponding author: bengi@me.com

L'obiettivo dello studio è stato la valutazione dell'uso di una formulazione di colture *starter*, di batteri lattici selezionati (LAB), di origine lattiero-casearia, e di probiotici commerciali, associata a condizioni specifiche di stagionatura, per la produzione di salami senza nitriti e nitrati a bassa acidità e il loro effetto sulle caratteristiche microbiologiche, chimiche e sulle proprietà sensoriali dei prodotti. L'esperimento si è articolato su tre piani di indagine, mettendo a confronto: salumi con impasto addizionato dei LAB selezionati e dei probiotici (PRO) rispetto a salumi senza l'aggiunta di colture *starter* (NO-PRO); salumi sottoposti a condizioni specifiche di stagionatura (SPEC) a paragone con condizione classica di stagionatura (NO-SPEC); infine, impasto additivato con Nitrati (NIT) rapportato a salumi nitrate-free (NO-NIT). Lo studio è stato suddiviso in due prove: i) NIT, NO-SPEC vs SPEC, PRO vs NO PRO, evidenziando una marcata crescita delle colture *starter* e dei probiotici asso-

ciati a una riduzione dello sviluppo di patogeni e degli indicatori di igiene in entrambe le condizioni di stagionatura investigate, il tutto associato a qualità organolettiche superiori dei prodotti a fine stagionatura PRO rispetto ai NO-PRO; ii) NO-NIT, SPEC vs NO-SPEC, PRO vs NO-PRO, dimostrando la capacità della formulazione di colture *starter* e probiotici di determinare un impedimento alla crescita di patogeni e di migliorare l'accettabilità dei salami nonostante l'assenza di conservanti. Da questo studio, si può dedurre, quindi, che esistano alternative all'utilizzo dei nitriti e nitrati negli insaccati; infatti, l'utilizzo di una formulazione di fermenti lattici selezionati e probiotici commerciali (PRO) in condizioni di stagionatura specifiche (SPEC) ha permesso di garantire la produzione di salami nitrite-free, conservando il sapore e l'aroma originali, riducendo il tasso di isolamento di patogeni e migliorando l'accettabilità del prodotto.

## C30

### Attività *in vitro* di una formulazione di batteri lattici di origine lattiero-casearia e probiotici nei confronti di batteri patogeni selezionati

Paola Sechi,<sup>1</sup> Maria Francesca Iulietto,<sup>1</sup> Sara Mattei,<sup>1</sup> Sara Novelli,<sup>1</sup> Giovanna Traina,<sup>2</sup> Michela Codini,<sup>2</sup> Beniamino Terzo Cenci-Goga<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Perugia; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Perugia, Italy

\*Corresponding author: bengi@me.com

L'obiettivo dello studio è stato la valutazione dell'attività *in vitro* di batteri lattici di origine lattiero-casearia (LAB) e di probiotici nei confronti di batteri patogeni selezionati, sottoposti a temperature di crescita di 10 e 37°C. I LAB e i probiotici sono stati inoculati in purezza in latte sterile per ottenere un rapporto iniziale di cocchi:bacilli:enterococchi di 2:1:1 e una concentrazione approssimativa di 10<sup>7</sup> cfu/mL. I batteri patogeni, provenienti dalla collezione del Laboratorio di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale (*Escherichia coli* CSH26 K12, *Staphylococcus aureus* 27R, *Salmonella derby* 27, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 12983, *Listeria innocua* ATCC 33090 e *Clostridium sporogenes* ATCC 19404), sono stati inoculati singolarmente in latte sterile per l'ottenimento della concentrazione di 10<sup>7</sup> cfu/mL. Per ogni batterio indagato, le prove effettuate si sono articolate in: i) controllo negativo-latte sterile; ii) associazione di LAB e probiotici; iii) patogeno od indicatore di igiene inoculato insieme ai LAB e probiotici; iv) patogeno od indicatore di igiene singolarmente. I terreni di coltura utilizzati sono stati BHI (Brain Heart Infusion; Oxoid) e latte, sottoposti a temperature di 10 e 37°C e le analisi sono state effettuate al tempo 0, 12, 24, 30, 48, 72, 120, 168, 240 h. Analizzando l'andamento di crescita dei LAB e probiotici inoculati insieme ai patogeni nello stesso terreno di coltura, è stato possibile evidenziare che: a 37°C, in latte, è presente una marcata attività inibente dei LAB e probiotici nei confronti della crescita dei patogeni e degli indicatori di igiene; a 10°C, in latte, l'inibizione è stata evidente ma progressiva, con tempi di decremento logaritmico più dilatati. In BHI i risultati si sono dimostrati sovrapponibili anche se in tempi più lunghi. Questo studio evidenzia chiaramente come, *in vitro*, la formulazione di LAB e probiotici sia in grado di impedire la crescita dei principali patogeni di interesse alimentare e come questi dati rappresentino un valido punto di partenza per procedere verso studi finalizzati alla progressiva eliminazione di conservanti dai prodotti di origine animale a favore di metodi alternativi che siano, parimenti, in grado di garantire la salute del consumatore.

## C31

**Monitoraggio del contenuto di Aflatossina M1 nel latte di pecora e di capra in Sardegna (2005-2013)**

Salvatore Viridis,<sup>1</sup> Christian Scarano,<sup>1</sup> Vincenzo Spanu,<sup>1</sup>  
Gavino Murittu,<sup>2,3</sup> Carlo Spanu,<sup>1\*</sup> Ignazio Ibbi,<sup>4</sup>  
Enrico Pietro Luigi De Santis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Consorzio per la tutela del Pecorino Romano DOP, Macomer (NU);  
<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari; <sup>3</sup>Illy Pinna Spa,  
Thiesi (SS); <sup>4</sup>Associazione Regionale Allevatori della Sardegna, Oristano  
(OR), Italy

\*Corresponding author: cspanu@uniss.it

Il presente lavoro mostra i risultati del monitoraggio della contaminazione da Aflatossina M1 (AFM1) nel latte di piccoli ruminanti allevati in Sardegna durante il periodo 2005-2013. La ricerca è stata condotta su un totale di 517 campioni di latte di pecora e 88 campioni di latte di capra, prelevati in allevamento da cisterne refrigerate, dalle autocisterne e dal latte di silos negli stabilimenti di trasformazione. Le analisi sono state eseguite presso il laboratorio dell'Associazione Regionale Allevatori della Sardegna utilizzando la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) e secondo la metodica descritta nella norma ISO 14501:1998. Nessuno dei campioni di latte di pecora, prelevati nel periodo 2005-2012, è risultato contaminato da AFM1. In 8 (4,6%) dei 172 campioni di latte ovino analizzati nel 2013, l'AFM1 è stata rilevata in concentrazione (media±DS) pari a 12,59±14,05 ng/L. In un campione di latte di allevamento è stato riscontrato un livello di AFM1 pari a 58,82 ng/L, più elevato rispetto ai limiti stabiliti dal Regolamento (CE) 1881/2006. Per il latte di capra, nessuno dei campioni analizzati nel periodo 2010-2012 era contaminato da AFM1. Nel 2013 su 66 campioni di latte di capra analizzati, in 9 (13,6%) l'AFM1 è stata rilevata in concentrazione pari a 47,21±19,58 ng/L. In due campioni la concentrazione di AFM1, pari a 62,09 e 138,16 ng/L, eccedeva i limiti stabiliti. La maggiore frequenza della contaminazione e la più elevata concentrazione di AFM1 rilevata nei campioni di latte di allevamento rispetto a quelli prelevati dalle autocisterne e dai silos di caseificio, mostra che lungo la filiera lattiero-casearia dei piccoli ruminanti può verificarsi una progressiva diluizione dell'aflatossina. Il livello di contaminazione da AFM1 in campioni di latte ovino e caprino prodotto in Sardegna è comunque stato inferiore rispetto a quello rilevato in altre aree. Tuttavia, il numero di campioni analizzati in Sardegna nel periodo 2005-2013 non risulta appropriato per assicurare un adeguato livello di monitoraggio e controllo della contaminazione in regime di autocontrollo.

## C32

**Uso dell'indagine elastosonografica per valutare le modifiche della mozzarella di bufala campana DOP durante la conservazione a differenti temperature**

Nicola Costanzo,<sup>1\*</sup> Adriano Michele Luigi Santoro,<sup>2</sup>  
Eleonora Sarno,<sup>2</sup> Antonio Di Loria,<sup>1</sup> Rosa Daniela Grembale,<sup>3</sup>  
Domenico Britti,<sup>1</sup> Federico Capuano<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Salute, Università Magna Graecia di Catanzaro;  
<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università

Magna Graecia di Catanzaro; <sup>4</sup>Laboratorio di Biotecnologie Applicate agli Alimenti, Dipartimento di Ispezione degli Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici (NA), Italy

\*Corresponding author: costanzo.nic@unicz.it

La Mozzarella di bufala campana DOP è un formaggio fresco caratterizzato da un colore bianco porcellana da una superficie umida e liscia, da una crosta sottile e da un sapore delicato. Il quantitativo d'acqua estremamente elevato rendono il prodotto estremamente deperibile e causa profonde modificazioni organolettiche durante la *shelf life*. Scopo del presente lavoro è quello di testare l'efficacia della elastosonografia nel valutare i cambiamenti che avvengono durante lo stoccaggio di mozzarella DOP di bufala campana. La mozzarella, appartenente allo stesso lotto di produzione, è stata prelevata in un punto vendita della provincia di Caserta. Il formaggio è stato suddiviso in tre gruppi e stoccato in condizioni diverse per 5 giorni successivi al campionamento: il primo (B1) è stato conservato in liquido di governo a temperatura ambiente (+20°C), il secondo (B2) è stato conservato senza liquido di governo a +4°C e il terzo (B3) stoccato a +4°C e conservato in liquido di governo. I gruppi sono stati sottoposti ad indagine elastosonografica il giorno stesso del campionamento (T0), dopo 1 giorno (T1), dopo 2 giorni (T2) ed infine dopo 5 giorni dal campionamento (T3). L'esame elastosonografico ha permesso di evidenziare nel gruppo B1 una riduzione dell'elasticità e dello spessore della crosta mentre nel gruppo B2 si è osservato invece un aumento dello spessore dello strato anelastico esterno. Tale metodica non ha invece evidenziato significative modificazioni durante lo stoccaggio nelle mozzarelle del gruppo B3.

## C33

**Ricerca di geni codificanti enterotossine in ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati da latte e derivati**

Guerrino Macori,<sup>1</sup> Francesco Chiesa,<sup>2\*</sup> Alberto Bellio,<sup>1</sup>  
Daniela Manila Bianchi,<sup>1</sup> Silvia Gallina,<sup>3</sup> Daniela Adriano,<sup>1</sup>  
Tiziana Civera,<sup>2</sup> Lucia Decastelli<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Struttura Complessa di Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino;  
<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Torino; <sup>3</sup>Laboratorio Nazionale di Ricerca per gli Stafilococchi Coagulasi Positivi compreso *S. aureus*, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy

\*Corresponding author: francesco.chiesa@unito.it

L'intossicazione alimentare da Stafilococco (SFP) è considerata, a livello mondiale, una delle forme più comuni di intossicazione alimentare. È caratterizzata da sintomi gastro-enterici che si manifestano in seguito all'ingestione di enterotossine stafilococche (SE) presenti nell'alimento. Ad oggi ne sono state identificate 21: alle 5 classiche enterotossine (SEA-SEE) si sono aggiunte 16 nuove tossine. La distribuzione dei geni che codificano per le enterotossine all'interno del genoma di *Staphylococcus aureus* è molto variabile, essendo, alcuni di questi presenti su regioni cromosomiali [per esempio sull'*enterotoxigenic gene cluster* (EGC)], altri su elementi genetici mobili (MGEs). Nello *S. aureus* gli MGEs più importanti sono rappresentati da batteriofagi, isole di patogenicità dello *S. aureus* (SaPIs), plasmidi e transposoni. Lo scopo del lavoro è stato quello di analizzare la distribuzione dei geni codificanti per SEs in ceppi di *S.*

*aureus* isolati da latte e prodotti caseari, che rappresentano, secondo fonti ufficiali, tra l'1 e il 9% degli alimenti coinvolti in casi di SFP nei paesi europei. Nel periodo tra Gennaio 2012 e Dicembre 2013 sono stati conferiti all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta un totale di 823 campioni di latte e prodotti caseari provenienti, per la maggior parte, dalla zona del torinese. I campioni sono stati sottoposti ad analisi microbiologiche per l'isolamenti di Stafilococchi coagulasi positivi e per l'identificazione di *S.aureus*. Gli isolati così ottenuti sono stati quindi analizzati per verificare la presenza di geni codificanti 11 SEs (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SER SEJ e SEP), secondo le procedure del Laboratorio Nazionale di Riferimento per gli Stafilococchi coagulasi positivi, compreso *S.aureus*. *S. aureus* è stato isolato in 180 campioni (22%) di latte e prodotti caseari; rispetto alla matrice, i campioni positivi sono stati, rispettivamente, 144/645 (22%) e 36/158 (20%). Dei 180 isolati di *S.aureus* analizzati, 85 hanno evidenziato la presenza di almeno un gene codificante per SEs; la distribuzione di questi geni ha permesso di delineare 14 differenti profili genetici. Il profilo più frequente è stato sed-ser-sej (36%), collocati sullo stesso plasmide, seguito da seg-sei (25%), collocati sull'EGC. Dei 10 ceppi di *S. aureus* isolati da latte ovi-caprino, 8 sono risultati potenzialmente enterotossigeni e 6 di questi presentavano il gene sec, evidenziabile in soli 4/133 ceppi di latte bovino. La recente identificazione di nuove SEs ha aumentato considerevolmente la frequenza di isolamento di stafilococchi enterotossigeni, cosa che suggerirebbe una potenziale patogeno, da parte di *S.aureus*, maggiore di quanto fino ad ora considerato. Tuttavia le informazioni riguardanti il ruolo delle nuove SEs nei casi di tossinfezione sono ancora scarse, in particolare per le tossine SEG e SEI, i cui geni sono collocati sull'EGC, così frequentemente riscontrato nei nostri campioni. Futuri studi, quantificando l'espressione di questi geni, potrebbero contribuire a delucidare la rilevanza dei ceppi portatori per la salute pubblica.

### C34

#### Ricerca del virus dell'Epatite A in ribes rossi (*Ribes rubrum*)

Valentina Terio,\* Marilisa Bottaro, Anna Mottola, Patrizia Marchetti, Elisabetta Bonerba, Giancarlo Bozzo, Angela Di Pinto

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari Aldo Moro, Valenzano (BA), Italy

\*Corresponding author: valentina.terio@uniba.it

Recenti dati epidemiologici registrano in Italia, a partire da gennaio 2013, un incremento del 70% del numero di casi di Epatite A tra la popolazione, associato verosimilmente al consumo di frutti di bosco congelati/surgelati. L'obiettivo del presente studio indaga la presenza del virus dell'Epatite A (HAV) in 6 campioni di ribes rosso (*Ribes rubrum*) freschi e congelati/surgelati (2 congelati, 1 surgelato e 3 freschi) acquistati da differenti supermercati di Bari e provincia tra gennaio e aprile 2014. I campioni sono stati sottoposti ad estrazione e purificazione di RNA virale e analizzati mediante *nested-PCR*. Il 17% dei campioni è risultato positivo all'HAV. Il presente lavoro evidenzia come il rischio microbiologico associato al consumo di prodotti di origine vegetale, sebbene da sempre fortemente sottovalutato, risulti attualmente di prioritaria importanza per la gestione della sicurezza degli alimenti.

### C35

#### Il challenge test microbiologico per *Listeria monocytogenes* in alimenti pronti al consumo: un approccio pratico

Carlo Spanu,\* Christian Scarano, Michela Ibba, Carlo Pala, Vincenzo Spanu, Enrico Pietro Luigi De Santis

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari, Italy

\*Corresponding author: cspanu@uniss.it

La responsabilità primaria della sicurezza degli alimenti ricade direttamente sugli operatori del settore alimentare. La validazione della durabilità degli alimenti è un elemento fondamentale per dare garanzie sulla sicurezza microbiologica degli alimenti. Gli operatori del settore alimentare conducono studi di *shelf life* volti ad assicurare che gli alimenti che producono siano conformi per tutta la loro vita commerciale, ai criteri microbiologici stabiliti nel Regolamento 2073/2005. Per gli alimenti pronti al consumo che costituiscono un substrato favorevole alla crescita di *Listeria monocytogenes*, gli operatori del settore alimentare possono affidarsi ai risultati ottenuti da studi come i *challenge test* microbiologici. Un *challenge test* microbiologico consiste nella contaminazione artificiale di un alimento con un microrganismo patogeno al fine di simulare il suo comportamento nel corso della *shelf life*, nelle prevedibili condizioni di conservazione e utilizzo. Una serie di documenti che descrivono come condurre i *challenge test* sono stati emanati a livello internazionale da parte di autorità sanitarie ed enti di ricerca. Gli autori descrivono la metodologia e le procedure seguite per sviluppare e condurre un *challenge test* microbiologico per *Listeria monocytogenes* in alimenti pronti. Il presente documento è stato elaborato e realizzando un'integrazione delle informazioni e dati riportati nella letteratura scientifica con aspetti pratici riguardanti la selezione dei ceppi e la loro preparazione, la scelta del livello di inoculo ed il metodo di contaminazione, pianificazione del disegno sperimentale l'interpretazione dei risultati. L'obiettivo del presente documento è di fornire una linea guida pratica ed esaustiva per i laboratori che vogliono condurre *challenge test* inerenti *Listeria monocytogenes* in alimenti *ready to eat*.

### C36

#### Ricerca di Norovirus in alimenti prelevati su navi da crociera del Mediterraneo

Eleonora Sarno,<sup>1,2\*</sup> Nicola Costanzo,<sup>3</sup> Alessandro Supino Di Lorenzo,<sup>1</sup> Orlandina Di Maro,<sup>4</sup> Yolande Thérèse Rose Proroga,<sup>4</sup> Adriano Michele Luigi Santoro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II, Italy; <sup>2</sup>Institut für Lebensmittelsicherheit und Hygiene, Universität Zürich, Switzerland; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Catanzaro; <sup>4</sup>Dipartimento di Ispezione degli Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici (NA), Italy

\*Corresponding author: eleonora.sarno@unina.it

Gli ambienti confinati, come quelli delle navi da crociera, facilmente contribuiscono alla diffusione di malattie alimentari da virus enterici compresi i *Norovirus*. Il contributo a tali epidemie di alimenti diversi da quelli comunemente riconosciuti come causa di malattia (molluschi e frutti selvatici) è stato oggetto di studio. Un totale di 189 campioni (prodotti a base di carne, pesce, vegetali, frutta, prodotti a buffet) veniva prelevato su due navi da crociera attraccate a due tra principali porti del Mediterraneo. Analizzati mediante *real-time RT-PCR* (ISO/TS15216-2:2003) i campioni risultavano negati-

vi; tuttavia queste tipologie di alimenti sono state già riconosciute come possibile veicolo di infezione virale, per cui i nostri risultati non possono escluderli come potenziali contribuenti. Ridurre i fattori di rischio (igiene e educazione del personale addetto alla manipolazione, materie prime contaminate, controlli di temperature, trattamenti termici) è sempre fortemente raccomandabile.

### C37

#### Tini in legno utilizzati per la produzione di formaggi tradizionali siciliani: indagine microbiologica e sicurezza alimentare

Maria Luisa Scatassa,<sup>1\*</sup> Cinzia Cardamone,<sup>1</sup> Viviana Miraglia,<sup>1</sup> Fabrizio Lazzara,<sup>1</sup> Gerlando Fiorenza,<sup>1</sup> Giusi Macaluso,<sup>1</sup> Luigi Arcuri,<sup>2</sup> Luca Settanni,<sup>3</sup> Isabella Mancuso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo; <sup>2</sup>Azienda Sanitaria Provinciale, Palermo; <sup>3</sup>Dipartimento di Agricoltura e Scienze Forestali, Università di Palermo, Italy

\*Corresponding author: luisa.scatassa@izssicilia.it

I processi produttivi dei formaggi tradizionali siciliani, nell'ambito delle deroghe previste dai regolamenti comunitari, prevedono l'utilizzo di attrezzature in legno che contribuiscono, grazie alla presenza di un biofilm, ad apportare una microflora lattica ad attività procasearia. Scopo del lavoro è stato indagare sulla composizione della flora microbica presente sulle superfici dei tini utilizzati per la produzione di Caciocavallo Palermitano e di Vastedda della valle del Belice DOP, con particolare riferimento alla flora lattica (LAB), indesiderata e patogena, nonché la tipizzazione dei LAB isolati e la valutazione della loro capacità *in vitro* di produrre batteriocine. Lo studio è stato condotto su 12 caseifici aziendali della Sicilia occidentale con prelievi eseguiti in vari periodi di due annate produttive (2012 e 2013) sulle superfici interne (fondo e parete) dei tini in legno utilizzati per la produzione dei formaggi Caciocavallo Palermitano (Tina CP) e della Vastedda della valle del Belice DOP (Tina VB). Sui campioni è stata eseguita l'indagine microbiologica volta a rilevare i principali parametri igienici, la microflora lattica e la ricerca dei patogeni *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Il tini investigati presentavano flore lattiche fra  $10^4$  e  $10^7$  ufc/cm<sup>2</sup>, coliformi totali ed *Escherichia coli* con valori massimi rispettivamente di  $10^3$  e  $10^2$  ufc/cm<sup>2</sup>, ad eccezione di un campione con  $10^6$  ufc/cm<sup>2</sup> di coliformi totali e  $10^3$  ufc/cm<sup>2</sup> di *E.coli*. Non sono stati riscontrati Stafilococchi coagulasi positivi, anaerobi solfito riduttori, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. È stata riscontrata un'alta biodiversità batterica (*Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophilus*) e oltre il 50% dei ceppi isolati è stato in grado di inibire la crescita di *Listeria monocytogenes*. Nei tini utilizzati per la produzione dei formaggi tradizionali è stata confermata la presenza di una microflora procasearia che svolge anche funzioni utili al conseguimento degli obiettivi di sicurezza alimentare grazie all'attività biocompetitiva dei LAB e alla loro capacità di produrre batteriocine.

### C38

#### Regolamento Comunitario N.ro 1099/2009: stato dell'arte ed applicazione in una Azienda Sanitaria Locale del Piemonte

Ginevra Paolucci,<sup>1</sup> Daniela Cagnasso,<sup>1</sup> Francesco Cassani,<sup>1</sup> Daniele Pattono<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Servizio Veterinario Igiene degli Alimenti di Origine Animale, Azienda

Sanitaria Locale, Torino; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Torino, Italy

\*Corresponding author: daniele.pattono@unito.it

La Comunità Europea nell'ultimo decennio ha rafforzato il concetto di benessere animale lungo tutta la filiera alimentare a partire dall'allevamento fino ad arrivare alle pratiche di macellazione essenzialmente per motivazioni etiche ed economiche. Il benessere ha investito anche i veterinari nei loro compiti ispettivi e di vigilanza. Studi e valutazioni anche di tipo economico hanno portato all'emanazione del regolamento CE 1099/2009 che con quest'anno diventa pienamente applicativo. Per questo motivo molte ASL si sono preparate con iniziative differenti. L'ASLTO4 ha elaborato un progetto volto alla formazione per l'applicazione di tale regolamento. Questa iniziativa si è articolata in quattro momenti: comunicazione alle aziende dell'entrata in vigore del nuovo regolamento comunitario, corso di aggiornamento per i veterinari ufficiali, audit negli stabilimenti di macellazione, corso di formazione per il personale addetto alle macellazioni. Lo scopo di questo lavoro è quello di riportare i risultati degli audit al fine di evidenziare criticità di carattere strutturale, strumentale o documentale. I risultati possono essere poi comparati con lavori analoghi al fine di mettere a punto strategie ed aree di intervento comuni. Le carenze strutturali sono state di relativa scarsa entità e riguardavano soprattutto aree di copertura o pavimenti. Per quanto riguarda la strumentazione alcune aziende, non potendo affrontare investimenti in elettrostorditori di ultima generazione, hanno ripiegato su strumenti a proiettile captivo. Le carenze documentali riguardavano la maggior parte delle non conformità. Mancavano soprattutto: procedure operative standard, certificati di omologazione delle gabbie e manuali degli strumenti di stordimento. In generale gli operatori hanno risposto bene ai cambiamenti richiesti pur con alcuni problemi di carattere economico. I problemi maggiori riguardano i requisiti documentali per i quali non sempre l'OSA è l'unico responsabile. Le ditte produttrici spesso non forniscono le documentazioni richieste. Questo progetto ha evidenziato, in sostanza, alcune criticità che saranno sicuramente colmate in un futuro ormai prossimo assieme a un cambiamento di mentalità dell'OSA. L'opinione pubblica esercita sempre più pressione e la classe veterinaria deve presentarsi già con soluzioni per non perdere credibilità e per confermare il ruolo di garante della sicurezza alimentare in ogni suo aspetto, benessere animale compreso.

### C39

#### Regione Lazio: prevalenza e caratterizzazione molecolare di *Escherichia coli* produttori di shiga tossine in formaggi a latte crudo

Selene Marozzi,<sup>1\*</sup> Paola De Santis,<sup>1</sup> Sarah Lovari,<sup>1</sup> Lucia Scaramella,<sup>1</sup> Roberto Condoleo,<sup>1</sup> Cinzia Sanpieri,<sup>1</sup> Sabrina Pecchi,<sup>1</sup> Veronica De Angelis,<sup>1</sup> Viviana Belardo,<sup>1</sup> Patrizia Palmieri,<sup>1</sup> Ilaria Di Domenico,<sup>1</sup> Stefano Bilei,<sup>1</sup> Rita Marcianò,<sup>2</sup> Ziad Mezher<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma;

<sup>2</sup>Area Sanità Veterinaria, Regione Lazio, Roma, Italy

\*Corresponding author: selene.marozzi@izslt.it

*Escherichia coli* produttori di Shiga tossine (STEC), chiamati anche *E. coli* verocitotossici (VTEC) sono in grado di produrre una o più citotossine, denominate tossina Shiga 1 (stx1) e tossina Shiga 2 (stx2) e di esprimere fattori di virulenza aggiuntivi coinvolti nello sviluppo di

malattia nell'uomo. Gli STEC rappresentano un rischio significativo per la salute pubblica e di recente sono stati identificati come una delle principali cause di malattie a trasmissione alimentare. Il tubo digerente dei ruminanti è il serbatoio principale degli STEC. Le cellule batteriche contaminano primariamente le mammelle bovine ed il mantello e secondariamente l'ambiente dell'allevamento. La contaminazione del latte da STEC avviene tramite i microrganismi presenti nelle feci. La loro presenza nel latte crudo varia tipicamente dallo 0 al 2%. Recentemente nella UE sono stati testati 2,610 prodotti caseari per STEC di cui 56 campioni (2,1%) sono risultati positivi. Per questa ragione, nell'ambito del piano di controllo della regione Lazio sono stati predisposti degli accertamenti per verificare la presenza di STEC, in formaggi a latte crudo e termizzato. Dei 203 campioni di formaggio esaminati, 161 sono stati analizzati per la ricerca di *E. coli* O157, utilizzando il metodo colturale in accordo con la ISO 16654:2001 preceduto da uno screening immunoenzimatico (VIDAS ECO bioMérieux valid; AFNOR BIO 12/8-07/00), mentre 146 sono stati esaminati per rilevare la presenza di STEC mediante *real-time* PCR come descritto nella ISO 13136:2012. Complessivamente sono stati isolati 2 ceppi di *E. coli* O157 (2/161; 1,2%), i quali non presentavano alcun gene di virulenza associato ed identificati 22 campioni stx-positivi (22/146; 15,1%), in particolar modo tra i formaggi a latte ovino. Due ceppi isolati da altrettanti formaggi ovisi sono risultati positivi per i geni stx ma nessuno di questi possedeva il gene codificante l'intimina (eae). La prevalenza dei geni stx identificati mediante PCR su brodocoltura è risultata sovrapponibile a quanto riportato in altri studi simili. Il maggiore tasso di positività dei formaggi a latte ovino potrebbe essere determinato dalle condizioni e dai processi produttivi applicati. Infatti nel Lazio spesso la realtà produttiva dei caseifici che lavorano latte ovino si configura come strettamente territoriale ed artigianale e pertanto i medesimi non sempre risultano rispondenti ad adeguati parametri igienico-sanitari. I dati avvalorano il basso livello di esposizione agli STEC per consumo di formaggi a latte crudo. Tuttavia, l'isolamento di alcuni ceppi di *E. coli* stx-positivi conferma che i prodotti in questione possono comunque rappresentare un veicolo di trasmissione di questi patogeni.

#### C40

##### **Evoluzione del challenge test integrato: ottimizzazione dei costi e dei tempi analitici**

Stefano Colombo,<sup>1</sup> Marco Romani,<sup>2\*</sup> Chiara Romani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mérieux NutriSciences, Lyon, France; <sup>2</sup>Chelab Silliker Italia Spa, Prato, Italy  
\*Corresponding author: marco.romani@silliker.it

Il presente studio riguarda la messa a punto di un modello di valutazione quantitativa del rischio *L. monocytogenes* in un patè di fegato. Nello specifico si tratta di un'evoluzione del *challenge test* integrato che mira a superarne i limiti legati soprattutto ai costi e ai tempi analitici. Per raggiungere tale obiettivo è stata utilizzata la microbiologia predittiva per estrapolare quei dati che, se ottenuti sperimentalmente, avrebbero prolungato le prove di laboratorio. È stato condotto un *challenge test* in triplo su 3 lotti di patè di fegato stoccati a 12°C e inoculati con un mix di ceppi di *L. monocytogenes* (1,6 Log UFC/g). A partire dal tempo zero è stata eseguita, per ogni campione, l'analisi dei batteri lattici (ISO15214:1998) e di *L. monocytogenes* (ISO11290-02:2005) fino al raggiungimento della fase stazionaria di entrambe le popolazioni. I risultati del *challenge test* a 12°C sono stati poi inseriti nel software Combase DMfit per ottenere i parametri di crescita (fase di latenza, tasso di crescita e fase stazionaria) delle due popolazioni. In seguito, usando appositi Software di microbiolo-

gia predittiva (Combase Growth Predictor e SSSP) sono stati estrapolati i parametri di crescita a 4°C e 8°C, che, se ricavati sperimentalmente, avrebbero comportato un aumento dei costi e dei tempi analitici. I parametri di crescita a 4°C, 8°C e 12°C sono stati poi utilizzati per mettere a punto il modello di valutazione quantitativa del rischio per predire la massima concentrazione del patogeno. Il modello è stato validato con un *challenge test* addizionale condotto inoculando i soliti ceppi di *L. monocytogenes* in 3 diversi lotti stoccati 4 giorni a 4°C, 4 giorni a 8°C e 4 giorni a 12°C. I risultati ottenuti hanno mostrato che il modello sottostima leggermente i dati reali (<0,5 Log UFC/g). In conclusione, quest'ultima versione del *challenge test* integrato ha permesso, grazie alla microbiologia predittiva, una riduzione significativa dei costi e dei tempi analitici senza compromettere l'accuratezza e la precisione del modello di valutazione quantitativa del rischio *L. monocytogenes*.

#### C41

##### **Metodiche di biologia molecolare per l'identificazione di specie in prodotti alimentari: applicazione di metodi basati su protocolli internazionali e verifica di approcci quantitativi**

Barbara Bertasi,<sup>1\*</sup> Michela Tilola,<sup>1</sup> Maria Malanga,<sup>1</sup> Dario De Medici,<sup>2</sup> Elisabetta Delibato,<sup>2</sup> Stefano Bilei,<sup>3</sup> Paola De Santis,<sup>3</sup> Sarah Lovari,<sup>3</sup> Pier Luigi Acutis,<sup>4</sup> Paola Modesto,<sup>4</sup> Simone Peletto,<sup>4</sup> Marina Nadia Losio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna B. Ubertini, Brescia; <sup>2</sup>Istituto Superiore di Sanità, Roma; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma; <sup>4</sup>Istituto Zooprofilattico Piemonte Liguria e Valle D'Aosta, Torino, Italy

\*Corresponding author: barbara.bertasi@izsler.it

L'identificazione di specie nei prodotti alimentari è divenuta recentemente una problematica significativa, volta ad evitare frodi nei confronti del consumatore e prevenire il consumo di sostanze dannose legate a determinate specie. All'inizio del 2013 il RASFF ha notificato un'allerta relativa alla contaminazione di carne di cavallo in differenti prodotti, che ha coinvolto numerosi stati; di conseguenza la Comunità Europea ha emanato una raccomandazione europea relativa a un piano coordinato di controllo volto a stabilire la prevalenza di pratiche fraudolente nella commercializzazione di determinati prodotti alimentari, per verificare la presenza di carne di cavallo in differenti matrici alimentari. In tale attività sono stati coinvolti anche i laboratori italiani operanti nell'ambito del Controllo Ufficiale. Contestualmente alla Raccomandazione CE, il Laboratorio di Riferimento Europeo per le proteine animali nei mangimi (EURL-AP) ha pubblicato il metodo analitico di *Real-Time* PCR da utilizzare per identificare il DNA di cavallo per la ricerca della carne di cavallo nei campioni prelevati nell'ambito del piano. Quest'ultimo metodo e differenti altri metodi di biologia molecolare (tutte determinazioni qualitative non in grado di distinguere fra aggiunta volontaria e contaminazione accidentale), la maggior parte validati e approvati dal Laboratorio di Riferimento e dal Ministero della Salute, sono stati applicati, in differenti laboratori ufficiali. In particolare l'IZSLER di Brescia ha analizzato 324 campioni, di cui 14 risultati non conformi per la presenza di DNA di cavallo sono stati confermati mediante analisi di revisione dall'ISS e IZSLT. Inoltre, le differenze riscontrate a livello delle varie metodiche e la condivisione dei dati fra differenti Istituti hanno consentito di confrontare i risultati e di identificare alcuni problemi relativi ai sistemi di quantificazione.

## C42

### Valutazioni preliminari all'adozione di un sistema di riconoscimento della classificazione (*grading*) in base a criteri igienico-sanitari dei pubblici esercizi nella città di Milano

Katia Razzini,<sup>1</sup> Claudia Maria Balzaretto<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Unione Nazionale Personale Ispettivo Sanitario d'Italia, Perugia;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università di Milano, Italy

\*Corresponding author: claudia.balzaretto@unimi.it

In questo lavoro è stato analizzato l'impianto normativo, gli strumenti a disposizione dell'Autorità sanitaria e le opinioni degli operatori relativamente alla possibile attuazione di un modello di Grading fruibile dai consumatori. È stato analizzato l'impianto normativo dei Controlli Ufficiali sulla Sicurezza alimentare i criteri e le modalità attuative e gli Standard descritti nel Manuale Operativo delle autorità competenti locali Regione Lombardia. È stato realizzato e somministrato un questionario composto da n. 10 domande in collaborazione con EPAM (Associazione Provinciale Milanese dei Pubblici Esercizi, aderente ad Unione Confcommercio Milano, Lodi, Monza e Brianza), che è stato somministrato a n.107 Esercizi pubblici di Milano. Dall'analisi delle risposte emerge che i gestori interessati dall'indagine sono per il 92% favorevoli all'introduzione di un sistema di Grading, che nel 40% ritengono una possibile fonte di pericolo la conduzione della sorveglianza da parte dell'autorità sanitaria in modo non omogeneo e standardizzato, che nel 86% dei casi non sono a conoscenza che alcuni paesi europei hanno adottato sistemi di valutazione, nel 73% ritengono utile l'obbligatorietà del sistema. A livello nazionale non esiste un sistema analogo a quelli applicati in paesi europei e extra CE, sebbene negli anni siano sorte alcune iniziative da parte sia di organismi nazionali sia delle rappresentazioni di categoria che ad oggi possono considerarsi concluse in modo negativo. Si ritiene che l'attribuzione della Categoria di Rischio effettuata dalle diverse ASL possa ritenersi insoddisfacente e carente ai fini dell'applicazione di un sistema omogeneo di valutazione con esito pubblico, in quanto si osserva che non siano state effettuate attribuzioni specifiche per ogni singola attività. Si osserva che le ASL in Regione Lombardia abbiano mantenuto la classe di Rischio suggerita dalla Regione Lombardia, per i bar 4 e per i ristoranti 3. I valori medi dell'indice di copertura evidenziano che un bar viene ispezionato ogni 6 anni ed un ristorante ogni 4. Questo indice di copertura è sicuramente insufficiente a sostenere l'avvio di un sistema di valutazione in osservanza ai principi di equità.

## C43

### Contaminazione da radionuclidi beta emittenti (90Sr) nei mangimi: validazione ed applicazione di un metodo radiochimico mediante conteggio in scintillazione liquida ad ultra basso fondo

Marco Iammarino,\* Daniela Dell'Oro, Nicola Bortone, Antonio Eugenio Chiaravalle

Centro di Referenza Nazionale per la Ricerca della Radioattività nel Settore Zootecnico-Veterinario, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italy

\*Corresponding author: marco.iammarino@tin.it

Lo 90Sr è considerato un contaminante delle filiere agroalimentari

in quanto che può essere rapidamente assorbito depositandosi nelle ossa. Nelle zone particolarmente contaminate, il passaggio di radionuclidi dall'ambiente ai foraggi e da questi ai prodotti di origine animale è stato più volte messo in evidenza. In questo lavoro viene presentata l'attività di sviluppo e validazione di un metodo radiochimico per la determinazione di 90Sr nei mangimi e l'applicazione di questa tecnica per le attività di routine di controllo su questa tipologia di matrice. La tecnica analitica impiegata è stata la scintillazione liquida (LSC); tecnica che consente di effettuare la determinazione di concentrazioni di attività di 90Sr anche molto basse, dopo opportuno trattamento del campione e raggiungimento dell'equilibrio secolare 90Sr/90Y. Seguendo un approccio di validazione implementato in-house si sono verificate e valutate le principali performance analitiche; quindi, il metodo validato è stato impiegato per effettuare un monitoraggio su 32 campioni di foraggi e mangimi, per verificare i livelli di contaminazione da 90Sr. Il metodo radiochimico descritto in questo studio ha mostrato diversi aspetti (selettività, sensibilità e robustezza) che lo rendono preferibile rispetto ad altri metodi attualmente disponibili. Inoltre, le prove di validazione hanno permesso di verificare l'idoneità allo scopo di tale metodica grazie alla valutazione delle più importanti performances analitiche: selettività, sensibilità, linearità, accuratezza e robustezza. Il monitoraggio su campioni di foraggi e mangimi ha permesso di confermare la necessità di controlli sulla contaminazione da 90Sr, soprattutto per quanto concerne le materie prime. Infatti, su tutti i campioni è stata verificata una contaminazione da 90Sr ben superiore al Detection Limit del metodo. In particolare, i campioni di fieno hanno fatto registrare la concentrazione di attività media di 90Sr più elevata (2.93 Bq kg<sup>-1</sup>), seguita da quella relativa ai campioni di insilato (2.07 Bq kg<sup>-1</sup>) e da quella relativa ai campioni di mangime (0.77 Bq kg<sup>-1</sup>). Il metodo radiochimico per la determinazione di 90Sr nei mangimi si è dimostrato idoneo allo scopo richiesto, possedendo tutti i requisiti di selettività, sensibilità, linearità, accuratezza e robustezza richiesti per questo tipo di determinazione. Il monitoraggio, effettuato su campioni di foraggi e mangimi, ha confermato la necessità di controlli sulla contaminazione da 90Sr, soprattutto per quanto concerne le materie prime.

## C44

### Sviluppo di colture batteriche autoctone con attitudine casearia e competitiva nei confronti di patogeni per la valorizzazione dei prodotti caseari d'alpeggio: applicazioni in campo

Sabrina Paternolli,<sup>1</sup> Irene Pedrolli,<sup>1</sup> Gloria Paolazzi,<sup>1</sup> Sonia Rodas,<sup>1</sup> Christian Andrighetto,<sup>2</sup> Angiolella Lombardi,<sup>2</sup> Rosaria Lucchini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Trento; <sup>2</sup>Veneto Agricoltura - Istituto per la Qualità e le Tecnologie Agroalimentari, Thiene (VI), Italy

\*Corresponding author: rluccini@izsvnezie.it

La valorizzazione dei prodotti caseari d'alpeggio, importante strumento per favorire lo sviluppo economico di aree spesso marginali, passa necessariamente attraverso la garanzia non solo della sicurezza igienico-sanitaria dei prodotti, ma anche delle loro qualità bromatologiche, sensoriali, nutrizionali e tecnologiche che permettono a ciascun prodotto di distinguersi in termini di qualità ed unicità. Il presente lavoro ha avuto per obiettivo la selezione di ceppi batterici con attitudine tecnologica e attività competitiva nei

confronti di patogeni (in particolare Stafilococchi coagulasi positivi) a partire dalla flora microbica autoctona di una malga del Trentino con lo scopo di produrre uno *starter* in grado di conferire al prodotto caratteristiche di sicurezza ed unicITÀ. A partire da campioni di latte e di formaggio prodotti nella malga selezionata sono stati isolati ed identificati con metodologia molecolare dei ceppi batterici lattici. Successivamente questi sono stati valutati per le loro caratteristiche tecnologiche (capacità di acidificazione), per l'assenza di plasmidi di resistenza verso particolari antibiotici e per la resistenza ai fagi. I ceppi idonei sono stati utilizzati per la produzione di uno *starter* liofilo da utilizzare nel processo di caseificazione. Sono state infine messe a confronto le caratteristiche fisico-chimiche e sensoriali di due diverse produzioni ottenute in malga, una con l'impiego di uno *starter* commerciale e l'altra con quello selezionato in azienda. Per la produzione dello *starter* sperimentale sono stati utilizzati due diversi biotipi di *Streptococcus thermophilus* isolati da campioni di latte ed un ceppo di *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, isolato da formaggio. Lo *starter* prodotto ha mostrato un'azione acidificante più rapida rispetto a quello commerciale impedendo così ad eventuali SCP presenti di produrre le enterotossine stafilococche. Le analisi chimiche indicano una significativa riduzione degli acidi grassi saturi in entrambe le produzioni a fronte di un aumento dei grassi polinsaturi, in particolare dell'acido rumenico. Significative differenze tra le due produzioni, invece, sono state individuate per quanto riguarda la frazione volatile; in particolare si evidenzia una maggiore attività lipolitica nel formaggio ottenuto con lo *starter* sperimentale, che risulta leggermente meno consistente più amaro e meno acido. Inoltre, presenta note olfattive di cotto e animale più intense rispetto al formaggio ottenuto con lo *starter* commerciale caratterizzato da note di maggiore acidità. L'utilizzo di colture autoctone opportunamente selezionate permette di valorizzare i prodotti caseari d'alpeggio attraverso la garanzia della sicurezza igienico-sanitaria e il conferimento di caratteristiche chimico-fisiche e sensoriali uniche.

#### C45

##### La percezione del rischio da parte del consumatore in materia di sicurezza alimentare: livello di conoscenza emerso attraverso il portale web IZSalimenTO

Amaranta Traversa,<sup>1\*</sup> Daniela Manila Bianchi,<sup>1</sup> Sara Astegiano,<sup>1</sup> Antonio Barbaro,<sup>2</sup> Cristina Bona,<sup>2</sup> Elisa Baioni,<sup>2</sup> Francesca Rubineti,<sup>2</sup> Enrico Aliberti,<sup>3</sup> Carlo Palazzo,<sup>3</sup> Silvia Gallina,<sup>1</sup> Lucia Decastelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Struttura Complessa di Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino;

<sup>2</sup>Struttura Complessa di Epidemiologia ed Osservatorio Epidemiologico, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino; <sup>3</sup>Struttura Complessa di Sistemi Informatici e Telematici, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy

\*Corresponding author: amaranta.traversa@izsto.it

L'obiettivo è esplorare i comportamenti e le conoscenze del consumatore circa le emergenze alimentari, gli agenti di malattie trasmesse da alimenti, il regime alimentare e il comportamento da adottare in gravidanza. La raccolta dei dati è avvenuta tra marzo 2013 e gennaio 2014 mediante compilazione online di questionari su tematiche ad hoc, anonimi, ad adesione volontaria e ad accesso libero sul portale web IZSalimenTO ([www.izsalimento.izsto/palimen-](http://www.izsalimento.izsto/palimen-)

ti). Sono stati proposti 11 questionari per un totale di 64 domande; sono state inoltrate dagli utenti 191 risposte. L'analisi dei risultati è stata condotta su 4 questionari. Questionario 1, Il virus dell'epatite A: il 77% dei partecipanti (N=26) ha indicato correttamente i frutti di bosco quale derrata legata ai casi di epatite A. Inoltre, la maggioranza (85%) riconosce la bollitura per almeno 2 min come misura precauzionale da attuarsi prima del consumo di frutti di bosco congelati. Questionario 2, Il problema botulino negli alimenti: il 62% degli utenti (N=47) ha individuato il pesto quale matrice coinvolta nell'allerta botulino di luglio 2013. Il rischio di botulismo infantile nei bambini sotto l'anno è poco conosciuto; il 51% dei partecipanti all'indagine (N=47) ha identificato il miele quale alimento a rischio e il 76% (N=17) ha individuato correttamente tale prodotto tra gli alimenti zuccherini utilizzati nella diffusa pratica di intingere il ciuccio. Questionario 3, Associa la malattia all'alimento a rischio: la maggior parte dei partecipanti (N=17) riconosce gli alimenti a base di uova crude come a rischio per Salmonella (75%) e conosce i trattamenti preventivi da applicare al pesce crudo per renderlo sicuro da forme parassitarie (77%). Questionario 4, Gravidanza e sicurezza alimentare: il 74% dei partecipanti (N=27) ritiene il lavaggio di frutta e verdura con bicarbonato o soluzioni clorate in grado di inattivare toxoplasma e solo il 15% ha individuato quali alimenti a rischio anche le verdure lavate con bicarbonato, oltre alla carne cruda. I risultati ottenuti circa i comportamenti alimentari da adottare in gravidanza e nei bambini sotto l'anno indicano che dovrebbero essere implementate le attività di informazione e formazione rivolte a tutti i consumatori. Il portale è risultato uno strumento utile a valutare le conoscenze del consumatore medio. Al contempo si è dimostrato efficace, attraverso i contenuti e le news, ad adempiere all'attività di formazione ed educazione nel campo della sicurezza alimentare, che risulta essere uno dei compiti della rete degli IZZSS.

#### C46

##### Latte pastorizzato in due caseifici aziendali: valutazione dell'igiene di processo e della stabilità microbiologica quando confezionato in bottiglie di vetro e plastica

Sara Astegiano,<sup>1\*</sup> Alberto Bellio,<sup>1</sup> Grazia Rosaria Gariano,<sup>1</sup> Alberto Parisi,<sup>1</sup> Daniela Manila Bianchi,<sup>1</sup> Silvia Gallina,<sup>1</sup> Monica Gramaglia,<sup>1</sup> Fabio Zuccon,<sup>1</sup> Luca Battaglini,<sup>2</sup> Giampiero Lombardi,<sup>2</sup> Lucia Decastelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Struttura Complessa di Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università di Torino, Grugliasco (TO), Italy

\*Corresponding author: sara.astegiano@izsto.it

Il mantenimento della qualità microbiologica del latte pastorizzato durante la *shelf life* dipende da diversi fattori, tra cui bassa qualità del latte crudo di partenza, sistemi di imballaggio non adeguati e temperature di conservazione scorrette. In Italia, il latte pastorizzato deve avere una scadenza di 6 giorni dopo la pastorizzazione. Gli obiettivi del presente lavoro sono stati la valutazione dell'igiene del processo di pastorizzazione e della stabilità microbiologica del latte pastorizzato presso due caseifici aziendali. Sono state effettuate tre lavorazioni di latte in entrambe le aziende, utilizzando diverse combinazioni di tempo/temperatura (72°C/1 min, 68°C/10 min, 63°C/30 min). L'imbottigliamento è avvenuto a 10°C in bottiglie di

vetro e di plastica. Le bottiglie sono state poi conservate a 8°C per 7 giorni. Due campioni per azienda/lavorazione/tipo di materiale di imballaggio sono stati analizzati a 0, 3, 5 e 7 giorni dopo la pastorizzazione. Le analisi sono state effettuate secondo i metodi ISO di riferimento: carica microbica totale mesofila e psicofila per la valutazione della stabilità microbiologica del prodotto; *Enterobacteriaceae*, *E. coli* e la determinazione della fosfatasi alcalina per la valutazione delle prassi igieniche e del corretto trattamento termico. La fosfatasi alcalina è risultata sempre inferiore a 350 mU/L in entrambe le aziende. Nell'azienda A, la carica mesofila era  $1,6 \pm 0,1$  Log UFC/mL al giorno 0 e dopo 5 e 7 giorni la carica aumentava a  $6,2 \pm 0,2$  e  $7,6 \pm 0,2$ , in entrambe le tipologie di bottiglie. La carica psicofila al giorno 0 era pari a 1,0 Log UFC/mL raggiungendo  $6,2 \pm 0,2$  a 5 giorni e  $7,4 \pm 0,3$  a 7 giorni. Tutti i campioni dopo il trattamento risultavano conformi al Regolamento 2073/2005 per le *Enterobacteriaceae*, mentre 14/48 (29%) erano >10 UFC/mL a 3 e 5 giorni. Nessun campione era positivo per *E. coli*. Nell'azienda B, la carica mesofila era 2,9 Log UFC/mL al giorno 0 e dopo 5 e 7 giorni la carica aumentava a  $5,2 \pm 0,7$  e  $6,5 \pm 0,4$ , in entrambe le tipologie di bottiglie. La carica psicofila andava da  $1,0 \pm 0,1$  Log UFC/mL al giorno 0 fino a 5,3 e  $6,2 \pm 0,3$ , rispettivamente a 5 e 7 giorni. Tutti i campioni erano conformi per *Enterobacteriaceae* subito dopo il trattamento, mentre solamente 4/48 (8,3%) erano >10 UFC/mL a 3 e 5 giorni. Nessun campione era positivo per *E. coli*. Non sono state evidenziate differenze tra i campioni, né considerando il tipo di imballaggio né le combinazioni tempo/temperatura. Alcuni campioni dell'azienda A erano superiori al limite di 7 Log UFC/mL per la carica mesofila al giorno 5, mentre nessuno era superiore a 6 Log per quella psicofila. Questi valori sono stati indicati da alcuni autori quali indici qualitativi di accettabilità per il latte pastorizzato. È da considerare, comunque, che il latte pastorizzato è stato stoccato a 8°C durante la *shelf life*, in condizioni di leggero abuso termico.

#### C47

##### La catena del freddo in ambito domestico: un'indagine esplorativa sul comportamento del consumatore

Stefania Balzan,\* Luca Fasolato, Barbara Cardazzo, Giulia Berti, Enrico Novelli

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

\*Corresponding author: stefania.balzan@unipd.it

Lo studio esplorativo ha inteso valutare le conoscenze del consumatore sulla catena del freddo. In particolare è stato indagato il comportamento dello stesso in fase di acquisto, trasporto, conservazione e utilizzo di alimenti freschi e congelati/surgelati. I dati sono stati raccolti utilizzando la tecnica del focus group. Ventiquattro consumatori (20 femmine e 4 maschi) di età variabile tra 33 e 78 anni sono stati intervistati durante 4 incontri. I risultati hanno evidenziato che, in generale, le conoscenze del consumatore sono discrete ma in diversi casi il comportamento risulta inappropriato, soprattutto relativamente alle fasi di trasporto, posizionamento in frigo e scongelamento degli alimenti. Per il consumatore sono soprattutto i congelati/surgelati a destare maggiore preoccupazione, in quanto risulta essere molto importante che non si scongelino durante l'acquisto e il trasporto mentre non vi è la stessa attenzione per i freschi. Anche la conservazione delle uova ha evidenziato delle criticità,

soprattutto dovute alla differenza nella modalità di conservazione tra punto vendita e abitazione. Considerate le ridotte dimensioni del campione lo studio non può essere considerato rappresentativo della realtà italiana ma la metodologia impiegata è particolarmente utile per comprendere il pensiero del consumatore, le sue esperienze e gli aspetti su cui intervenire per aumentare la consapevolezza del suo ruolo nella sicurezza alimentare.

#### C48

##### Valutazione di tecnologie innovative per il miglioramento della qualità e salubrità delle uova da consumo: trattamento con ultravioletti e confezionamento in atmosfera protettiva

Frédérique Pasquali,\* Pietro Rocculi, Federica Bovo, Pietro Olivi, Alex Lucchi, Adele Meluzzi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Italy

\*Corresponding author: frederique.pasquali@unibo.it

Nel presente studio è stata valutata l'efficacia del trattamento con ultravioletti (UV) da solo ed in combinazione con il confezionamento in atmosfera protettiva [*modified atmosphere packaging* (MAP)] al fine di ridurre la carica microbica sul guscio e prolungare il mantenimento della qualità del prodotto. L'efficacia del trattamento con UV, incluso in una rulliera commerciale, è stata valutata su 640 uova prelevate dalla rulliera prima e dopo il modulo per il trattamento con UV in quattro campionamenti successivi. Per la valutazione dell'effetto congiunto del trattamento con UV e del confezionamento in MAP, sono state utilizzate uova prelevate dopo il trattamento con UV, posizionate su supporti di cartone e confezionate con il 100% di CO<sub>2</sub> in buste di materiale multistrato ad alta barriera. Le confezioni sono state successivamente stoccate a 21°C ed analizzate dopo 1, 7, 14, 21 e 28 giorni di conservazione. Uova trattate con UV e non confezionate così come uova non trattate con UV e non confezionate hanno costituito i due gruppi di controllo. Sui gusci delle uova sono state eseguite le seguenti analisi microbiologiche: conta batterica totale, conta di coliformi fecali e totali e presenza/assenza di *Salmonella* spp. Inoltre sui campioni di uova durante la conservazione sono state valutate alcune caratteristiche chimico-funzionali quali calo peso, pH ed indice di Haugh. L'impiego dei raggi UV sulla rulliera commerciale è risultato efficace nel ridurre significativamente la conta batterica totale sulla superficie delle uova da consumo (da 3,29 a 2,27 log<sub>10</sub> UFC/mL). Per quanto riguarda l'effetto congiunto di UV e MAP, i campioni confezionati con CO<sub>2</sub> hanno mantenuto durante la conservazione valori di indice di Haugh prossimi a quelli iniziali, mentre il pH dell'albumine è risultato di circa 1,5-2 punti più basso del campione non confezionato. In termini microbiologici, il confezionamento in CO<sub>2</sub> non è stato associato ad una variazione significativa della carica microbica sul guscio. Il trattamento con UV è risultato efficace nel ridurre la carica batterica totale della superficie dell'uovo. La MAP ha mostrato elevate potenzialità nel mantenimento e/o miglioramento di alcune proprietà tecnologiche dei costituenti dell'uovo durante la conservazione (es. stabilità della schiuma, croccantezza delle meringhe dopo formulazione). La presenza di CO<sub>2</sub> non sembra invece aver apportato benefici in termini di rallentamento dello sviluppo microbico.

C49

### L'esame ispettivo degli alimenti come strumento di valutazione delle segnalazioni dei cittadini: casi reali e suggestioni

Damiano Accurso,\* Annunziata Cannavacciuolo, Giorgio Fedrizzi

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

\*Corresponding author: damiano.accurso@izsler.it

L'opinione pubblica negli ultimi anni ha dimostrato sempre maggiore interesse alla sicurezza alimentare. La salubrità del prodotto, oltre ad essere concepita come corretto e bilanciato apporto di nutrimento, è considerata anche come qualità delle materie prime, qualità di preparazione e conservazione del prodotto, qualità nell'aspetto organolettico. L'alimento visto nel complesso delle sue diverse preparazioni ha assunto un ruolo centrale nel quotidiano di molti individui e inevitabilmente ha conquistato l'attenzione dei molti anche con i recenti fatti di *cronaca alimentare*. Questi ultimi hanno sensibilizzato il consumatore e lo hanno spinto sempre più spesso a rivolgersi agli organi ufficiali (NAS, AUSL, etc.) o al laboratorio per sospette alterazioni e adulterazioni accidentali o dolose di alimenti. I diversi casi di esame ispettivo che hanno interessato il Reparto Chimico degli Alimenti di Bologna eseguiti negli ultimi 4 anni sia su alimenti di origine animale e vegetale, sia su acqua, polveri, liquidi e sostanze anonime, mostrano due diverse prospettive: da una parte vi è un ingiustificato timore del consumatore davanti a influenze mediatiche, sociali o psicologiche, dall'altra parte vi sono segnalazioni fondate che hanno permesso di evitare o limitare conseguenze più gravi sul piano della sicurezza alimentare. La trattazione dell'argomento comprenderà alcuni casi di alterazioni alimentari segnalati dai consumatori; alcuni sono stati giudicati come infondati, altri come reali pericoli. La documentazione fotografica a supporto di questi mostrerà le immagini più esemplificative dei casi rappresentativi.

## POSTER

### Venerdì 12 settembre

P01

#### Variazione temporale dell'eliminazione fecale di *Escherichia coli* O157:H7 in un allevamento di bovine da latte autorizzato alla vendita di latte crudo

Giuseppe Merialdi,<sup>1</sup> Lia Bardasi,<sup>1</sup> Laura Stancampiano,<sup>2</sup> Roberta Taddei,<sup>1</sup> Mauro Delogu,<sup>2</sup> Antonietta Di Francesco,<sup>2</sup> Ilaria Guarniero,<sup>2</sup> Ester Grilli,<sup>2</sup> Mattia Fustini,<sup>2</sup> Elena Bonfante,<sup>2</sup> Federica Giacometti,<sup>2</sup> Andrea Serraino<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Bologna; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO), Italy

\*Corresponding author: andrea.serraino@unibo.it

Lo scopo della ricerca è stato quello di valutare, tramite uno studio longitudinale, le modifiche temporali nella eliminazione fecale di *E. coli* O157:H7 in un allevamento di bovine da latte che commercializza latte crudo per il consumo umano diretto. Lo studio è stato effettuato tra ottobre 2012 e settembre 2013 in una tipica stalle di medie dimensioni. L'allevamento era costituito da circa 140 animali (70 capi adulti e 70 giovani). Ventisei animali di ciascuno dei due gruppi (adulti e giovani) sono stati scelti casualmente e sono stati effettuati da ciascun animale 6 campionamenti di feci a distanza di 2 mesi l'uno dall'altro (in totale 284). A ogni campionamento sono stati effettuati, per ciascun gruppo, 3 campioni di acqua (in totale 36) dagli abbeveratoi e 2 campioni di mangime dalla greppia (in totale 24). I campioni sono stati analizzati tramite *real time PCT* (RT-PCR) ed esame colturale. In totale 16 (5,6%) campioni di feci sono risultati positivi tramite RT-PCR e 9 tramite esame colturale. In tutti gli isolati è stata dimostrata la presenza dei geni *stx1*, *stx 2* e *eae*. Un campione di mangime è risultato positivo tramite RT-PCR; nessun campione di acqua è risultato positivo. L'elaborazione dei dati ha evidenziato in generale una riduzione del numero di campioni positivi nel corso dello studio e una relazione tra la prevalenza dei campioni positivi e la temperatura media ambientale. I risultati dello studio dimostrano che, in una tipica azienda di bovini da latte italiana, l'eliminazione fecale di *E. coli* O157:H7 segue il medesimo andamento osservato in altre situazioni; l'aumento della eliminazione fecale nel periodo estivo ha un impatto significativo sulla contaminazione ambientale e e sulla sicurezza dei prodotti alimentari in particolare il latte venduto e consumato crudo.

P02

#### Determinazione, mediante il teorema di Bayes, della probabilità con cui può verificarsi la contaminazione fecale delle vongole (*Chamelea gallina*) raccolte nel distretto di San Benedetto del Tronto

Cesare Ciccarelli,\* Angela Marisa Semeraro, Vittoria Di Trani, Alessandra Aliventi, Piero Capocasa, Sandra Murru

Servizio Veterinario di Igiene degli Alimenti di Origine Animale, Azienda Sanitaria Unica Regionale Marche, Area Vasta 5, San Benedetto del Tronto (AP), Italy

\*Corresponding author: cesare.ciccarelli@sanita.marche.it

Le precipitazioni atmosferiche rappresentano una variabile ambientale in grado di influenzare il livello di contaminazione fecale delle zone di produzione dei molluschi bivalvi. Diversi studi hanno verificato questa relazione, tuttavia non è stato mai definito il livello di probabilità con cui si manifestano tali contaminazioni. Scopo del presente lavoro è stato dimostrare come, basandosi sul teorema di Bayes ed utilizzando i risultati del monitoraggio microbiologico, sia possibile definire la probabilità con cui può verificarsi la contaminazione microbiologica dei molluschi bivalvi, oltre il limite di accettabilità, al variare del livello di precipitazioni atmosferiche. Sono stati presi in considerazione i risultati del monitoraggio nei confronti di *E. coli*, disponibili nella banca dati AlgaeAdria per il periodo dal 2005 al 2012, nelle zone di raccolta di vongole (*Chamelea gallina*) del distretto di San Benedetto del Tronto, mentre le informazioni relative alle precipitazioni atmosferiche sono state ottenute dal sistema informativo meteo-idro-pluviometrico della regione Marche. Gli eventi studiati sono stati limitati alle ipotesi in cui si sono verificate precipitazioni giornaliere <6 mm e >6 mm nei quattro giorni precedenti il prelievo del campione. La stima della probabilità di una contaminazione, oltre il limite di accettabilità (>230 MPN/100 g), dopo che le precipitazioni sono state ≥6 mm, è stata espressa come:  $P(>230 | >6 \text{ mm}) = \frac{P(>230)P(>6 \text{ mm} | >230)}{[P(>230)P(>6 \text{ mm} | >230) + P(>6 \text{ mm} | <230)(1 - P(>230))]}$ . Dove:  $P(>230)$  indica la probabilità dei risultati con *E. coli* >230 MPN/100g;  $P(>6 \text{ mm} | >230)$  è la probabilità delle precipitazioni ≥6 mm quando si verificano risultati con *E. coli* >230 MPN/100g;  $P(>6 \text{ mm} | <230)$  indica la probabilità delle precipitazioni ≥6 mm quando si verificano risultati con *E. coli* ≤230 MPN/100g. L'esame dei valori di probabilità ottenuti ha permesso alcune considerazioni: le probabilità più elevate si hanno con i livelli di precipitazioni atmosferiche maggiori e quando i campioni sono stati prelevati più vicino alla costa; i valori di probabilità riscontrati non appaiono sempre coerenti con lo status sanitario: questo elemento potrebbe indurre a rivederne la classificazione. Per concludere, l'approccio bayesiano può rappresentare uno strumento prezioso nello studio dei risultati del monitoraggio microbiologico dei molluschi bivalvi, soprattutto perché consente una valutazione quantitativa del rischio microbiologico.

### P03

#### Analisi di impurità solide in prodotti alimentari mediante metodo *light filth test*: risultati 2012-2013

Maria Giovanna Tilocca,<sup>1\*</sup> Bruna Vodret,<sup>1</sup> Maria Rosalba Mancuso,<sup>1</sup> Antonina Zimmardi,<sup>2</sup> Claudia Manno,<sup>2</sup> Maria Rita Schiavo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Struttura Complessa Igiene degli Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreffi, Sassari; <sup>2</sup>Area Diagnostica Specialistica, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo, Italy

\*Corresponding author: mgtilocca@gmail.com

La legislazione Europea con l'emanazione del Pacchetto Igiene ha stabilito i nuovi standard igienici in tutte le fasi della produzione alimentare con l'obiettivo di assicurare alti livelli di protezione per la salute pubblica. Al fine di garantire tali standard nella catena alimentare una particolare attenzione deve essere rivolta al controllo per la presenza di corpi estranei come impurità solide di origine vegetale, minerale o animale. Il *light filth test* è un metodo utilizzato per rilevare impurità solide di varia natura, applicabile a diverse

matrici alimentari. In questo lavoro sono riportati i risultati di 92 matrici alimentari analizzate per la presenza di impurità solide, nel corso dei controlli ufficiali 2012-2013, presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna. I risultati hanno evidenziato la presenza di frammenti di insetto in un campione di semola e in uno di polpa di pomodoro, mentre frammenti di plastica sono stati rinvenuti in un campione di pane grattugiato.

### P04

#### Influenza dello stress acuto da maneggiamento su alcuni parametri ematici nell'orata (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) di allevamento

Francesco Fazio,<sup>1</sup> Vincenzo Ferrantelli,<sup>2</sup> Gianluca Fortino,<sup>1</sup> Francesca Arfuso,<sup>1\*</sup> Giuseppe Giangrosso,<sup>1</sup> Caterina Faggio<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Messina; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Biologiche e Ambientali, Università di Messina, Italy

\*Corresponding author: farfuso@unime.it

La presente ricerca ha voluto valutare l'influenza di uno stress acuto molto frequente in acquacoltura (handling stress) sul profilo ematologico e sui livelli ematici di glucosio e lattato nell'orata allevata. A tale scopo sono stati creati due gruppi provenienti dalla stessa vasca di allevamento e omogenei per gli indici biometrici: Gruppo A, non soggetto a stress e Gruppo B sottoposto ad handling stress. Il confronto statistico (t-test Student per dati non appaiati) ha mostrato un aumento significativo dei valori di: globuli rossi (RBC), ematocrito (Hct), emoglobina (Hb), globuli bianchi (WBC), glucosio e lattato ematico ( $P < 0,05$ ), e una diminuzione significativa ( $P < 0,05$ ) del volume corpuscolare medio (MCV) nel gruppo A rispetto al Gruppo B. I risultati ottenuti evidenziano che nei pesci, lo studio della risposta ematologica agli stimoli stressogeni rappresenta un'importante chiave di lettura per il miglioramento del benessere delle specie sottoposte ad allevamento intensivo e per la qualità del prodotto ittico.

### P05

#### Primo riscontro di positività per yessotossine in mitili allevati e commercializzati in Sardegna nel 2013

Alessandro Mudadu,<sup>\*</sup> Giuseppe Tedde, Giuseppa Lorenzoni, Igor Arras, Giovanna Sanna, Riccardo Bazzardi, Antonella Canu, Maria Teresa Uda, Cinzia Santucci, Edoardo Marongiu, Sebastiano Virgilio

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

\*Corresponding author: decambis@yahoo.it

Lo scopo del presente lavoro è quello di descrivere le attività analitiche previste dal Piano della regione Sardegna per la vigilanza ed il controllo sanitario della produzione, commercializzazione dei molluschi bivalvi vivi e del monitoraggio periodico delle zone di molluschicoltura, con particolare riferimento ai requisiti previsti per le tossine algali nel Reg. CE n. 853/04, in un campione rappresentativo di molluschi bivalvi allevati e commercializzati in Sardegna, ed inoltre, di segnalare i riscontri di positività per yessotossina verificatisi, per la prima volta, nella regione Sardegna. Nell'anno 2013 sono stati analizzati mediante test biologico su topi (MBA) n. 882

campioni di molluschi bivalvi per la determinazione delle tossine liposolubili (OAS, PTXs, AZAs e YTXs), utilizzando il metodo AESAN UE-RL MB Lipophilic tossine Versione 5 giugno 2009, e n. 992 campioni per la determinazione delle tossine *paralytic shellfish poison* (PSP), utilizzando il metodo MBA AOAC 959,08. Sui campioni analizzati per la ricerca di tossine algali del tipo PSP non sono state riscontrate non conformità, ossia nessun campione ha superato il limite di 800 µg STX eq/kg previsto dal Reg. 853/04 EC. Nel medesimo periodo è stata riscontrata positività per yessotossine al mouse test. I campioni risultati positivi sono stati inviati al Laboratorio di Riferimento Nazionale (NLR) per biotossine marine di Cesenatico per l'analisi mediante cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS/MS). Dei 5 campioni positivi al mouse test, solo 3 sono stati confermati con LC-MS/MS. Il Regolamento (UE) n.15/2011 ha modificato il precedente Regolamento (CE) n. 2074/2005 definendo il metodo LC-MS/MS come riferimento per le tossine liposolubili. Il test biologico su topi può essere utilizzato fino al 31 dicembre 2014, previa conferma con il metodo LC-MS/MS. Le yessosossine, prodotte dai dinoflagellati *Protoceratium reticulatum*, *Lingulodinium polyedrum* e *Gonyaulax spinifera*, sono state associate al gruppo delle *diarrhetic shellfish poisoning* (DSP), perchè estratte contemporaneamente con lo stesso metodo. Recenti evidenze suggeriscono, tuttavia, che le yessotossine, a differenza dell'acido okadaico e delle dinophysitossine, non provocano una sintomatologia gastrointestinale, né inibiscono la proteina fosfatasi. Nessun caso di intossicazione umana riconducibile a yessotossine è stato finora riportato in letteratura. Studi tossicologici condotti sui topi hanno dimostrato che le yessotossine sono altamente tossiche se iniettate per via intraperitoneale, mentre non lo sono se somministrate per via orale. Il Regolamento (UE) n. 786/2013 del 16 agosto 2013, in vigore dal 6 Settembre 2014, modifica il limite da 1 mg a 3,75 mg di YTX/eq kg di p.e.; secondo questo nuovo regolamento, i campioni risultati positivi nell'aprile 2013 sarebbero risultati conformi ai limiti di legge.

## P06

### Indagine sulla presenza di *Anisakis* spp. in acciughe pescate nel Mar Ligure

Laura Serracca,<sup>1\*</sup> Roberta Battistini,<sup>1</sup> Irene Rossini,<sup>2</sup> Alessandra Teraroli,<sup>1</sup> Monica Corsi,<sup>1</sup> Marino Prearo,<sup>2</sup> Carlo Ercolini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio di Microbiologia Marina, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, La Spezia; <sup>2</sup>Laboratorio di Ittiopatologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy

\*Corresponding author: laura.serracca@izsto.it

Obiettivo del presente studio è stato quello di valutare il grado di infestazione di larve di *Anisakis* spp. in acciughe pescate nelle zone costiere del Mar Ligure e di effettuare una caratterizzazione biomolecolare delle larve L3 isolate per l'identificazione delle specie di appartenenza. Nel periodo tra aprile e settembre 2012 sono state analizzate un totale di 1050 acciughe (*Engraulis encrasicolus*) pescate nell'area di mare compresa fra Punta Mesco e Punta Cavo nel Parco Nazionale delle Cinque Terre nel mar Ligure nord-orientale. I campioni sono stati trasportati entro 24 h e conservati a temperatura di refrigerazione fino al momento dell'analisi. I pesci sono stati sottoposti ad esame visivo e/o mediante stereomicroscopio e successiva eviscerazione, per la ricerca di larve L3 di nematodi

Anisakidae; il pacchetto intestinale e la porzione muscolare dei vari soggetti ridotta a filetti di spessore inferiore al centimetro sono stati poi osservata tramite speratura. Tutte le larve isolate sono state conservate in etanolo al 70%, e successivamente osservate allo stereomicroscopio per l'identificazione attraverso caratteri morfologici. Le larve identificate come appartenete al genere *Anisakis* sono state sottoposte ad un ulteriore caratterizzazione molecolare mediante PCR-RFLP per identificarne la specie. La presenza di larve vive appartenenti al genere *Anisakis* è stata riscontrata in 8 campioni di acciughe esaminate su 1050 (0,76%). L'esame morfologico al microscopio ottico ha permesso di identificarle come larve L3 di tipo I (sensu Berland 1961), mediante l'applicazione della tecnica PCR-RFLP, in base alla combinazione di patterns RFLP e l'uso di chiavi di lettura presenti in bibliografia, la specie identificata è stata *A. pegreffii*. Riguardo la localizzazione, le larve di *Anisakis* sono state osservate sempre nei visceri. I valori di intensità ed abbondanza media sono risultati rispettivamente pari a 1 e a 0,0076. La specie *Anisakis pegreffii* identificata nelle acciughe rappresenta quella di più frequente isolamento in molte specie ittiche nei mari italiani e inoltre appare essere responsabile nella maggior parte dei casi di anisakiasi umana in Italia. Tuttavia la bassa presenza di larve riscontrata nelle acciughe pescate nel Mar Ligure nord-orientale rappresenta un basso rischio per il consumatore in caso di consumo di acciughe marinate o sotto sale.

## P07

### Caratteristiche qualitative e di composizione di mazzancolle tropicali (*Litopenaeus vannamei*) surgelate di due diverse provenienze

Erica Tirloni, Cristian Bernardi, Patrizia Cattaneo\*

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

\*Corresponding author: patrizia.cattaneo@unimi.it

Il presente lavoro nasce dalla segnalazione di una differente resa alla cottura di code di mazzancolle tropicali surgelate *individual-quick-freezing* di due diverse provenienze: Ecuador ed India che non riportavano in etichetta alcun additivo aggiunto. Scopo del presente lavoro è stata l'identificazione delle cause della differente resa alla cottura tra i due prodotti, considerando in particolare i parametri legati alla capacità di trattenere l'acqua e ricercando la presenza di fosfati aggiunti, additivi ammessi in questo tipo di prodotto per migliorare la resa alla cottura ed allo scongelamento. I due i campioni sono stati valutati per: composizione (umidità, ceneri, proteine) sul prodotto decongelato e dopo cottura, fosforo totale e naturale, cloruri, *water holding capacity*, glassatura, perdite allo scongelamento (*thawing loss*), perdite alla cottura (*cooking loss*), tenerezza. I risultati ottenuti hanno confermato una differenza soprattutto dopo cottura tra i campioni delle due provenienze. In particolare il campione proveniente dall'Ecuador mostra una maggiore resa a seguito di scongelamento e cottura e minore perdita di succosità dopo cottura. I parametri di *cooking loss* e *thawing loss* che possono essere influenzati dall'aggiunta di fosfati: i valori di P totale, sono risultati superiori nel campione proveniente dall'Ecuador, confermando il sospetto di aggiunta di tali composti. La quantità aggiunta risulta in ogni caso entro i limiti consentiti per i molluschi e crostacei congelati e surgelati, non trasformati, di 5000 mg/kg [Reg. (CE) n.1333/2008].

P08

### La ricerca di corpi estranei in funghi secchi commercializzati in Italia mediante applicazione del *filth test*

Maria Rita Schiavo,<sup>1\*</sup> Claudia Manno,<sup>1</sup> Antonina Zimmardi,<sup>1</sup>  
Bruna Vodret,<sup>2</sup> Maria Giovanna Tilocca,<sup>2</sup> Serena Altissimi,<sup>3</sup>  
Naceur M. Haouet<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreff, Sassari; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia, Italy

\*Corresponding author: mariarita.schiavo@izssicilia.it

La presenza di contaminazioni biotiche nei funghi (infestazione primaria e secondaria) limita la commerciabilità dell'alimento stesso e può costituire un serio danno per la salute del consumatore. Obiettivo di questo lavoro è fornire dati aggiornati sulla contaminazione da corpi estranei (biotiche e abiotiche) in funghi secchi (*Boletus* spp.) commercializzati in Italia mediante l'applicazione del metodo *filth test*. Sono stati esaminati dieci campioni di funghi secchi di differenti aziende reperiti in commercio per un totale di 49 determinazioni (15 g di matrice vegetale) mediante applicazione di un metodo microscopico (*filth test*). Tutti i campioni esaminati sono risultati contaminati da impurità biotiche (prevalentemente larve ed insetti) e raramente abiotiche (terriccio). L'infestazione secondaria dei prodotti analizzati è pressoché assente, a dimostrazione che le industrie nazionali di lavorazione dei funghi applicano adeguate misure di lavorazione. La selezione sul prodotto importato già essiccato, mediante esame visivo, non è sufficiente a garantire la scelta di un prodotto privo di contaminazione: il metodo microscopico risulta più accurato per svelare i contaminanti nascosti. La ricerca delle impurità mediante *filth test* ha confermato la distribuzione non uniforme dei contaminanti di natura fisica, osservata tra ripetute determinazioni effettuate sullo stesso campione. Il controllo sanitario dei funghi freschi o secchi assume oggi un ruolo di rilievo a seguito del forte incremento nel consumo di questo alimento: restano comunque ancora poco efficaci le informazioni in etichetta e la carenza legislativa che non ha ancora definito i limiti di tolleranza per la contaminazione entomologica.

P09

### Su due episodi di Listeriosi gravidica e neonatale: indagini, criticità e riflessioni

Selene Marozzi,<sup>1\*</sup> Maria Grazia Marocco,<sup>1</sup> Rita Tollì,<sup>1</sup> Stefano Bilei,<sup>1</sup>  
Pier Paolo Boria,<sup>1</sup> Laura De Santis,<sup>1</sup> Elena Dell'Aira,<sup>1</sup>  
Stefania Colonna,<sup>1</sup> Giuseppina Migliore,<sup>1</sup> Daniela Ricci,<sup>2</sup>  
Claudia Rossi,<sup>2</sup> Teresa Bossù<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma;

<sup>2</sup>Azienda Sanitaria Locale, Roma, Italy

\*Corresponding author: selene.marozzi@izslt.it

Le malattie da *L. monocytogenes* nelle donne gravide sono 18 volte più frequenti (12/100.000) che nel resto della popolazione (0,7/100.000). Casi sporadici ed epidemici di listeriosi perinatale sono stati riportati con una prevalenza che varia tra l'8,6 ed il 17,4/100.000 nati vivi. Scopo del presente lavoro è illustrare gli esiti, le modalità e criticità di un'indagine ambientale, alimentare e

di laboratorio successiva all'isolamento di tre ceppi di *L. monocytogenes* in pazienti ricoverati presso due presidi ospedalieri della capitale. Nel gennaio 2013 sono pervenuti presso l'ZSLT, 3 ceppi batterici di *L. monocytogenes* isolati da una madre e dal suo neonato e da un secondo lattante. Sugli stessi sono state effettuate una sieroaagglutinazione con kit Listeria Antiseri SEIKEN (DENNKA SEIKEN CO. Ltd., Tokyo, Giappone) ed una tipizzazione molecolare mediante *pulsed field gel electrophoresis* (PFGE) secondo il protocollo standardizzato PulseNet. Contemporaneamente è stato prelevato su sospetto dal Servizio Veterinario della ASL Roma B, un campione reperto di salmone affumicato commercializzato presso un esercizio della grande distribuzione. Sull'alimento sono state condotte le seguenti analisi di laboratorio: determinazione dell'aw, mediante metodo di riferimento ISO 21807:2004, valutazione del pH secondo il metodo MFHPB 03:2012, esame culturale qualitativo e quantitativo per la ricerca di *L. monocytogenes* come da UNI EN ISO 11290: 2005 parte 1 e 2. Per l'identificazione sierologica sui ceppi isolati è stato infine eseguito un test di sieroaagglutinazione con kit Listeria Antiseri SEIKEN (DENNKA SEIKEN CO. Ltd.) ed una tipizzazione molecolare mediante PFGE secondo il protocollo standardizzato PulseNet. Le indagini di laboratorio hanno dimostrato che tutti e tre i ceppi isolati dai pazienti appartenevano al sierotipo 4b ma a due cluster differenti (cluster B per gli isolati da madre e figlio e cluster A per quello del secondo neonato). Gli esami condotti sul salmone affumicato hanno invece rilevato positività per *L. monocytogenes* sierotipo 1/2 a, mentre la tipizzazione molecolare l'appartenenza ad un terzo cluster. Non è stata rilevata una correlazione epidemiologica tra i due casi di listeriosi neonatale pur avendo la sieroaagglutinazione rilevato l'appartenenza dei tre ceppi al medesimo sierotipo 4b. L'incidenza del sierotipo 4b nei casi di listeriosi varia dal 50 al 70% e tende ad essere più elevata negli episodi perinatali. Per quanto riguarda invece i ceppi isolati dal campione reperto di salmone affumicato, l'appartenenza al sierotipo 1/2a ha escluso ogni correlazione tra i casi umani ed il consumo dell'alimento.

P10

### Ricerca di *Bacillus cereus* e delle sue tossine in ricotte fresche e salate commercializzate in Sardegna

Maria Lucia Rossi, Alessia Caterina Noli, Elia Mura, Alida Delogu,  
Giuseppa Porqueddu, Andreina Marongiu, Antonio Fadda\*

Laboratorio Microbiologia del Latte e Derivati, Dipartimento Igiene degli Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreff, Sassari, Italy

\*Corresponding author: antonio.fadda@izs-sardegna.it

La ricotta è un prodotto che per le sue caratteristiche può presentare elevate cariche di *Bacillus cereus* (*B. cereus*). Scopo del seguente lavoro è stato quello di valutare il livello di contaminazione di *B. cereus* nella ricotta fresca e salata, e della sua capacità di produrre tossine in questo substrato. Sono stati esaminati n. 110 campioni di ricotta, acquistati presso la grande e piccola distribuzione. Sui campioni sono state eseguite le analisi per la ricerca di *B. cereus* e delle sue tossine. Per la ricerca e enumerazione di *B. cereus* è stata utilizzata la metodica ISO 7932:2005, mentre per la ricerca delle tossine emetiche e diarroiche sono stati usati rispettivamente un test immunocromatografico rapido (GLISA *Singlepath Emetic Tox Mkr*) ed un test immunologico visivo (3M TECRA *Bacillus*

*Diarrhoeal Enterotoxin Visual Immunoassay*). I risultati evidenziano che nel 37% dei campioni si riscontrava la presenza *B. cereus*. La percentuale rilevante dei campioni positivi risulta in linea con dati dei controlli ufficiali recentemente pubblicati. La contaminazione era compresa tra un valore di 1,00 e 4,77 log 10cfu/g. Un dato interessante appare il riscontro di tossina emetica in un campione dove la carica di *B. cereus* era di sole 1,3 log 10cfu/g, mentre non sono state riscontrate tossine in campioni di ricotta dove i livelli di carica batterica erano molto elevati.

## P11

### Minima concentrazione battericida di un estratto fenolico derivato dalle acque di vegetazione del frantoio su un panel di microrganismi di origine alimentare

Luca Fasolato,<sup>1\*</sup> Barbara Cardazzo,<sup>1</sup> Stefania Balzan,<sup>1</sup> Lisa Carraro,<sup>1</sup> Agnese Taticchi,<sup>2</sup> Filomena Montemurro,<sup>1</sup> Enrico Novelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università di Padova, Legnaro (PD); <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università di Perugia, Italy

\*Corresponding author: luca.fasolato@unipd.it

Il presente studio ha valutato l'effetto *in vitro* di un estratto fenolico derivato dalle acque di vegetazione del frantoio (EFAV) su un panel di microrganismi di origine alimentare. L'attività antibatterica del EFAV è stata determinata mediante MBC (minima concentrazione battericida) in micrometodo. Sono stati esaminati i seguenti generi: *Staphylococcus* (n. 5), *Listeria* (n.4), *Escherichia* (n. 2), *Salmonella* (n. 1), *Pseudomonas* (n. 3), *Lactobacillus* (n. 2) e *Pediococcus* (n. 1). *S. aureus* e *L. monocytogenes* hanno evidenziato il più basso livello di resistenza all'estratto (MBC: 1,5-3 mg/mL). In contrasto, le specie Gram negative (*S. Typhimurium* e *Pseudomonas* spp.) hanno presentato un elevato grado di sopravvivenza (MBC: 6-12 mg/mL). Le colture *starter* hanno manifestato un'elevata sensibilità all'EFAV (es. *Staphylococcus xylosum*, MBC: 0,75 mg/mL). Le soglie di MBC rilevate nei patogeni verranno applicate in studi di *shelf life* e *challenge test*.

## P12

### Studio di monitoraggio e caratterizzazione molecolare del virus dell'Epatite E in allevamenti suini nella provincia di Brescia

Enrico Pavoni,\* Ilaria Barbieri, Barbara Bertasi, Guerino Lombardi, Paolo Cordioli, Marina Nadia Losio

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

\*Corresponding author: enrico.pavoni@izsler.it

Il virus dell'Epatite E (HEV) è costituito da un capsido, privo di envelope. L'RNA genomico è di circa 7,5 kb e contiene tre ORF. La ORF1 codifica per le proteine non strutturali, l'ORF2 codifica per la proteina del capsido, e la ORF3 codifica per una fosfoproteina. HEV è stato recentemente classificato come il membro prototipo del genere *Hepevirus*, famiglia *Hepeviridae*. Anche se i ceppi di HEV appartengono ad un unico sierotipo, esistono almeno quattro genotipi principali (G1-G4). E' importante sottolineare come ceppi appartenenti

al G3 e al G4 siano stati ritrovati anche nei suini. Il virus si trasmette all'uomo per via oro-fecale ed è l'agente eziologico dell'Epatite E, una patologia autolimitante trasmessa entericamente e di tipo non-A non-B. Poichè HEV è stato isolato sia nell'uomo, nei maiali, nei cervi e nei cinghiali, l'Epatite E si può considerare una zoonosi. La contaminazione può avvenire attraverso il contatto con i suini in particolari categorie lavorative come i veterinari, gli addetti ai macelli e gli allevatori che mostrano una maggiore prevalenza di anticorpi anti-HEV. L'infezione può essere trasmessa anche attraverso il consumo di prodotti a base di carne contaminati, soprattutto se poco cotti o brevemente stagionati. Dal momento che nella provincia di Brescia è molto diffusa l'attività di allevamento suinicolo, l'obiettivo del presente studio è stato quello di valutare la circolazione di HEV tra le aziende di produzione e di individuare una possibile correlazione tra ceppi. 183 campioni di feci sono stati raccolti da suini di 2-4 mesi di vita, in 17 allevamenti nella provincia di Brescia. L'RNA virale è stato estratto utilizzando un kit commerciale con membrane di silice e retrotrascritto. E' stata eseguita una nested PCR, mediante l'utilizzo di primer degeneri specifici per la regione ORF2 del genoma. L'analisi filogenetica è stata eseguita sul set di dati allineati ed è stato generato un albero senza radice. Tra i 183 campioni di feci analizzati, 28 (15,3%) sono risultati positivi per HEV. L'analisi filogenetica ha mostrato come i ceppi di HEV avessero omologia di sequenza con ceppi G3 precedentemente rilevati in Europa. L'importanza economica dell'Epatite E sulla produzione di suini e sul consumo di carne necessita di ulteriori indagini. In Italia, l'allevamento dei suini ha un profondo impatto sull'economia agro-alimentare, dove le tradizioni sono strettamente legate al consumo di carne di suino. La sopravvivenza di HEV in alcuni prodotti tipici italiani, come salumi e insaccati, deve essere valutata sia nelle fasi di produzione primaria, sia nelle fasi di trasformazione che durante la stagionatura. I dati ottenuti sono stati considerati indicativi come punto di partenza per uno studio più approfondito soprattutto su una correlazione tra HEV suino e casi sporadici di Epatite E nell'uomo.

## P13

### Utilità dei livelli sierici di amiloide A, aptoglobina, fibrinogeno e sul numero dei globuli bianchi come indicatori dello stress da trasporto in ovini e bovini

Francesco Fazio,<sup>1</sup> Vincenzo Ferrantelli,<sup>2</sup> Antonello Cicero,<sup>2</sup> Stefania Casella,<sup>2\*</sup> Giuseppe Piccione<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Messina; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo, Italy

\*Corresponding author: stefania.casella@unime.it

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto dello stress da trasporto sui livelli sierici di amiloide A (SAA), aptoglobina (Hp), fibrinogeno (Fbg) e sul numero dei globuli bianchi (WBC) in 10 pecore e in 10 vitelloni. Tutti gli animali sono stati sottoposti ad un trasporto su strada della durata di 6 ore per una distanza di circa 490 km con una velocità media di 80 km/h. Su tutti i soggetti i campioni di sangue, raccolti mediante venopuntura della giugulare, sono stati ottenuti prima e dopo il trasporto su strada e dopo 12, 24 e 48 ore di riposo. L'analisi della varianza a due vie per misure ripetute (ANOVA) ha mostrato una differenza statisticamente significativa su tutti i parametri studiati nelle due diverse specie e, per ciascuna specie, SAA, Hp e WBC hanno mostrato differenze

statisticamente significative nei differenti tempi sperimentali. I risultati ottenuti evidenziano, nelle pecore e nei vitelli, l'influenza dello stress da trasporto sulle concentrazioni.

## P14

### Analisi di vitamina B12 in prodotti lattiero-caseari mediante cromatografia liquida ad ultra prestazione accoppiata alla spettrometria di massa tandem

Elisa Zironi, Teresa Gazzotti, Andrea Barbarossa, Federica Farabegoli, Andrea Serraino, Giampiero Pagliuca\*

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

\*Corresponding author: giampiero.pagliuca@unibo.it

La vitamina B12, o cobalamina, è una molecola idrosolubile composta da un complesso tetrapirrolico con un atomo di cobalto al centro. È un nutriente essenziale assai importante per l'uomo che, a differenza delle altre vitamine del gruppo B, viene sintetizzato unicamente dai batteri e per questo motivo è presente solo negli alimenti fermentati battericamente o in quelli derivati da animali che l'hanno assunto tramite la dieta o attraverso la microflora gastrointestinale. Gli alimenti di origine animale sono quindi l'unica fonte di questa vitamina per l'uomo, il cui fabbisogno giornaliero è circa di 1-2 mg. Poiché il latte ed i prodotti lattiero-caseari forniscono un apporto dietetico significativo di questa vitamina, sono stati analizzati diversi campioni raccolti in vari stadi durante quattro processi di caseificazione, al fine di valutare la ripartizione di questa molecola nei differenti prodotti; in particolare sono stati esaminati: latte crudo, caglio, siero, cagliata, ricotta, mozzarella e caciotta, tutti prelevati in doppio. La procedura di estrazione è stata condotta su 5 g di ciascuna matrice, aggiungendo un tampone sodio acetato e cianuro di potassio; i campioni sono poi stati sottoposti a trattamento termico che, in presenza di cianuro, converte tutte le cobalamine in cianocobalamina. Dopo purificazione su cartucce per estrazione in fase solida i campioni sono stati iniettati nel sistema di cromatografia liquida ad alta prestazione accoppiata alla spettrometria di massa tandem (UPLC-MS/MS) ed analizzati in elettrospray positivo con modalità *multiple reaction monitoring* (MRM). Dai risultati ottenuti, il dato più interessante è quello del livello di B12 rilevato nel siero e nella ricotta, in cui si ha una concentrazione circa 10 volte maggiore rispetto a quella del latte di partenza. Parallelamente si assiste ad un calo in cagliata, caciotta e mozzarella. Essendo nota l'affinità della vitamina B12 per alcune proteine, questi dati confermerebbero la tendenza della cobalamina a concentrarsi nella frazione proteica del siero.

## P15

### Definizione di un protocollo standard applicato ad un challenge test in un prodotto della tradizione abruzzese

Vincenza Prencipe, Anna Franca Sperandii,\* Violeta Di Marzio, Romina Romantini, Diana Neri, Gino Angelo Santarelli

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

\*Corresponding author: a.sperandii@izs.it

I prodotti a base di carne suina consumati crudi, poco cotti o dopo

breve periodo di stagionatura sono considerati alimenti a rischio. La produzione di salsicce (insaccato fresco a base di carne suina) è presente in parecchie regioni italiane, con variazioni nella composizione della ricetta in base alle tradizioni locali. In alcune realtà regionali, come in Abruzzo, questi prodotti sono frequentemente consumati crudi, previo un periodo di stagionatura variabile. La normativa alimentare dell'Unione Europea (Reg. 2073/2005 e linee guida) prevede l'impiego di *challenge test* per determinare i livelli di sicurezza dei prodotti tradizionali. Lo studio è parte di un progetto più ampio finalizzato all'acquisizione di dati sulla sicurezza di prodotti alimentari tipici rispetto a *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica* e si propone di definire, oltre che un protocollo sperimentale, la creazione di documenti di analisi standard per *challenge test* da effettuare su questo tipo di prodotto. Tali procedure, redatte in accordo con le linee EURL Lm, sono state perfezionate dopo la partecipazione ad uno studio preliminare di *proficiency testing* di un *challenge test* di processo. I dati ottenuti sperimentalmente, preparando i prodotti secondo le modalità previste dalla tradizione e contaminandoli in laboratorio, hanno fornito indicazioni sulla capacità o meno dell'alimento di favorire la crescita di microrganismi patogeni. Le fasi di produzione e preparazione sono state eseguite nel Laboratorio di Trasformazione Sperimentale dell'IZSAM G. Caporale. La mix batterica per la contaminazione del prodotto è stata preparata unendo un pari quantitativo di 3 ceppi (1 ATCC e 2 di campo) ciascun adattato per ogni temperatura. Le mix sono state titolate e poi diluite per ottenere nella matrice una concentrazione pari a 10.000 ufc/g, nel primo lotto, e 100 ufc/g nel secondo. I due lotti di salsicce ottenuti, contaminati e di controllo, sono stati stoccati in celle termostatiche a due diverse temperature. Il primo lotto è stato conservato a 8 e 20°C, il secondo a 12 e 18°C, per ottenere una valutazione statistica completa (Baranji). Tutti i campioni sono stati esaminati in triplicato per gli esami prestabiliti. I risultati hanno evidenziato che, nonostante il condizionamento della temperatura di conservazione e del livello di aw, entrambi i microrganismi permangono nel prodotto a concentrazioni simili a quelle iniziali o sono in grado di incrementare la propria carica. In particolare il periodo di maggior consumo di questi prodotti (7/8 giorni dalla preparazione) corrisponde al periodo di maggior crescita dei microrganismi patogeni studiati. Fanno eccezione i prodotti contaminati da *L. monocytogenes* conservati a 8°C.

## P16

### Prevalenza di *Sarcocystis* spp. in carne bovina macinata: studio istologico e molecolare

Serena Meistro,<sup>1\*</sup> Simone Peletto,<sup>1</sup> Marzia Pezzolato,<sup>1</sup> Katia Varello,<sup>1</sup> Mario Botta,<sup>1</sup> Guia Richelmi,<sup>1</sup> Claudio Biglia,<sup>2</sup> Elisa Baioni,<sup>1</sup> Paola Modesto,<sup>1</sup> Pier Luigi Acutis,<sup>1</sup> Elena Bozzetta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino; <sup>2</sup>Azienda Sanitaria Locale, Torino, Italy

\*Corresponding author: serena.meistro@izsto.it

La Sarcosporidiosi può essere contratta dall'uomo mediante l'ingestione di carni di bovino parassitate, crude o poco cotte. In vari Paesi europei risulta ampiamente diffuso il consumo di preparazioni tipiche a base di carne cruda, carni poco cotte e insaccati freschi; in Italia, questa tradizione è consolidata in particolare in Piemonte. Oltre che da *S. hominis*, che ha un potenziale zoonosico, la carne bovina può essere infestata da *S. cruzi* e *S. hirsuta*, non patogene per l'uomo. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di

determinare la prevalenza a livello regionale di *Sarcocystis* spp., con particolare riferimento a *S. hominis*, in carne macinata di bovino destinata ad essere consumata cruda, acquistata presso macellerie e GDO in Piemonte. È stato effettuato un campionamento rappresentativo di 25 campioni di carne macinata provenienti da 25 differenti bovini. Il metodo di campionamento è stato di tipo casuale semplice. I campioni sono stati sottoposti in parallelo ad esame istologico con colorazione ematosilina-eosina (EE) e ad identificazione su base genetica, con PCR differenziale ed analisi di frammenti mediante software Gene Mapper. È stata effettuata il calcolo della prevalenza di infestazione a livello regionale da *Sarcocystis* spp., considerate nel loro complesso e come singole specie, e dei relativi intervalli di confidenza. All'esame istologico 16 campioni su 25 sono risultati positivi per la presenza di cisti riferibili a *Sarcocystis* spp., indicando una prevalenza di infestazione del 64% (IC 95% 42-82). Alla PCR 22 campioni su 25 sono risultati positivi per la presenza di una o più *Sarcocystis* spp., con una prevalenza pari all'88% (IC 95% 69-97). In particolare, la prevalenza è risultata essere dell'80% per *S. cruzi* (IC 95% 59-93), 68% per *S. hominis* (IC 95% 46-85) e 4% per *S. hirsuta* (IC 95% 0,10-20). I risultati ottenuti indicano una prevalenza relativamente alta di *S. hominis* ed appaiono particolarmente interessanti se considerati in rapporto alla realtà della regione Piemonte, nella quale è piuttosto diffusa l'abitudine di consumare carni bovine crude o poco cotte. Occorre quindi considerare il problema sanitario che potenzialmente potrebbe derivarne, in particolare per specifiche categorie di consumatori, quale quella dei soggetti immunodepressi.

## P17

### Igiene della macellazione dei suini in strutture annesse alle aziende agrituristiche

Rina Mazzette,<sup>1\*</sup> Francesca Piras,<sup>1</sup> Vanessa Agus,<sup>1</sup>  
Gabriella Porcheddu,<sup>1</sup> Giuseppe Fois,<sup>2</sup> Simonetta Gianna Consolati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari; <sup>2</sup>Azienda Sanitaria Locale, Sassari, Italy

\*Corresponding author: rmazzett@uniss.it

La macellazione presso le aziende agrituristiche deve avvenire in locali riconosciuti (Reg. Ce n. 852/04 e 853/04). Le linee guida applicative delle regioni stabiliscono i requisiti minimi, tenendo conto del principio di flessibilità. La macellazione di suinetti e suini adulti rientra tra le attività più sviluppate nelle aziende, con vincoli numerici differenti in relazione alle regioni. Scopo dell'indagine era la valutazione: delle caratteristiche strutturali e di igiene dei locali in relazione al contesto produttivo; dei criteri microbiologici di igiene e di sicurezza delle carni di suinetti e suini adulti. In n. 6 macelli riconosciuti annessi ad agriturismi (ASL di Sassari) sono stati valutati i requisiti strutturali e di igiene dei locali e la tecnologia di macellazione, inclusi gli indicatori di benessere animale. Su n. 73 carcasse (68 lattonzoli, 3 suini pesanti e 2 riproduttori) sono state inoltre determinate: a) pH a 1 e 24 ore dalla macellazione; b) contaminazione superficiale: metodo non distruttivo sui seguenti punti di campionamento: i) prosciutto; ii) lombo (solo adulti); iii) pancetta-linea di incisione; iv) guancia (solo adulti). Sono stati ricercati i seguenti parametri: a) conteggio delle colonie aerobiche (CCA), *Enterobacteriaceae* (EB) ed *E. coli*, *Salmonella* spp.; b) *Listeria monocytogenes*; c) *E. coli* VTEC. Quasi tutti i macelli presentano due locali dedicati alle attività della zona sporca e pulita, ma talvolta le operazioni di stordimento e iugulazio-

ne avvengono all'esterno. Le operazioni di scottatura dei suinetti avvengono prevalentemente in paioli con acqua a temperatura controllata, mentre la depilazione dei suini adulti avviene mediante scottatura. Principali criticità rilevate (suinetti): atteggiamenti di agitazione e spavento (96%) in fase di immobilizzazione, sospensione degli animali preliminarmente allo stordimento; vocalizzazioni (41%); accesso non individuale allo stordimento; non idoneo posizionamento degli elettrodi con ripetizione dell'operazione (4%); voltaggio medio pari a 135,6 V e intensità media della corrente applicata pari a 0,78 A; segni di stordimento: ammiccamento (24,29%), presenza del riflesso corneale (12,8%), riflesso di raddrizzamento, vocalizzazioni (15,4%); iugulazione: sospensione di soggetti coscienti (53,8%), ripetizione dell'incisione. Caratteristiche delle carcasse: a) pH: pH1=6,21±0,25 e 6,18±0,22, pH24= 5,66±0,17 e 5,49±0,11, rispettivamente in suinetti e suini adulti; b) CCA: prevalenza del 100% in tutte le carcasse, con valori (media±d.s. log10 UFC/cm2) di 4,11±0,64 e 4,63±0,42, in lattonzoli e adulti rispettivamente; c) EB: prevalenza dell'81,6% (2,55±0,80) in suinetti e 100% (3,22±0,90) negli adulti; d) *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*: assenti; f) VTEC: n. 6 (13,95%) positivi a PCR di screening (5 suinetti, 1 adulto). I requisiti strutturali appaiono idonei per la macellazione ai fini della somministrazione della carne presso le aziende, tenendo conto del contesto in cui operano (entità delle macellazioni, quantità di carni prodotte, carattere locale della distribuzione e somministrazione). Le analisi microbiologiche evidenziano livelli di contaminazione delle carcasse dei suini adulti (CCA, *Enterobacteriaceae*) superiori ai criteri microbiologici previsti dal Reg. Ce 2073/2005. La formazione degli operatori e dei responsabili del benessere animale può consentire di migliorare le procedure di stordimento e di iugulazione.

## P18

### Indagine preliminare sulla presenza di metalli tossici e idrocarburi policiclici aromatici in *Haliotis tuberculata lamellosa*

Sabrina Longo,<sup>1</sup> Chiara Copat,<sup>2</sup> Margherita Ferrante,<sup>2</sup>  
Gea Oliveri Conti,<sup>2</sup> Maria Violetta Brundo,<sup>3</sup> Francesca Conte<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Messina; <sup>2</sup>Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica, Università di Catania; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università di Catania, Italy

\*Corresponding author: fconte@unime.it

Nel presente lavoro sono riportati i risultati di alcune indagini preliminari sulla presenza di metalli pesanti e IPA in campioni di abaloni, prelevati in tre differenti distretti del Mar Mediterraneo di Sicilia e Calabria. Sono stati esaminati tre lotti (10 esemplari per ciascun lotto) (Catania: lotto n. 1; Villa San Giovanni: lotto n. 2; Messina: lotto n. 3) per la valutazione dei livelli di Piombo (Pb), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg), Arsenico (As) e di 16 IPA. La quantificazione dei metalli è stata effettuata mediante Spettrometria di Massa a Plasma induttivamente accoppiato (ICP-MS). I campioni sono stati esaminati per IPA mediante Cromatografia Liquida ad Alta Prestazione (HPLC). I valori medi (vm) per Pb erano di 0,0835 (lotto n. 1), 0,250 (lotto n. 2) e 0,083 mg/kg (lotto n. 3); i valori medi per il Cd erano pari a 0,195 (lotto n. 1), 0,106 (lotto n. 2) e 0,195 mg/kg (lotto n.3); le medie riferite a Hg sono state di 0,009 (lotto n. 1), 0,011 (lotto n.2) e 0,09 mg/kg (lotto n. 3); i valori medi per As erano pari a 7,057 (lotto n.1), 5,271 (lotto n. 2) e 5,014 mg/kg (lotto n. 3). Per ciò che concerne il Benzo(a)Pirene (BaP), i livelli

medi sono stati di 12,72 (lotto n. 1), 7,70 (lotto n. 2), 3,45 (lotto n. 3) µg/kg. Tali valori erano inferiori ai livelli massimi stabiliti dal Regolamento (CE) n.1881/2006 per i molluschi [1,5, 1,0, 0,5 mg/kg per Pb, Cd e Hg, rispettivamente; 10 µg/kg per B(a)P]. Detto regolamento non include i livelli massimi (LM) per l'arsenico. I valori elevati di tale metallo, riscontrati in due lotti, hanno destato qualche perplessità; sarebbe ipotizzabile che gli abaloni siano dotati di una notevole attitudine all'accumulo di arsenico, anche in relazione alla contaminazione delle aree di raccolta dei campioni. Le concentrazioni di B(a)P nei lotti n. 1 e n. 2 si attestavano al di sopra del LM stabilito dal Regolamento (CE) n. 1881/2206. Tra gli IPA analizzati, inoltre, risultavano elevate le concentrazioni di Naphtalene nei lotti n. 2 e n. 3 (72,91 µg/kg); Acenafilene in tutti e tre i lotti (20,85 e 21,66 µg/kg); Acenafene nei lotti n. 2 e n. 3 (50,95 µg/kg); B(k)F nei lotti n. 1 e n. 2 (15,95 e 13,42 µg/kg, rispettivamente); Pyrene in tutti e tre i lotti (5,89, 5,86, e 7,42 µg/kg, rispettivamente); In (123, cd) P nei lotti n. 1 e n. 3 (7,71 e 8,97 µg/kg). E' verosimile che i siti di campionamento degli abaloni soggiacessero a livelli differenti di contaminazione; la presenza di residui di inquinanti negli organismi acquatici è correlabile alla contaminazione dell'habitat ed alla capacità degli stessi organismi di metabolizzare tali composti. I livelli dei contaminanti riportati nel nostro studio potrebbero essere considerati a basso rischio per la salute del consumatore. Malgrado ciò, sarebbero opportuni ulteriori approfondimenti scientifici al fine di stabilire se gli abaloni costituiscono una fonte importante di metalli tossici e di IPA a seguito del loro consumo.

## P19

### Contaminazione da *Listeria monocytogenes* del latte crudo al distributore automatico: un case report

Erika Scaltriti,<sup>1</sup> Norma Arrigoni,<sup>2\*</sup> Marina Morganti,<sup>1</sup> Davide Sasseria,<sup>3</sup> Giuliana Cammi,<sup>2</sup> Stefano Pongolini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Parma; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Piacenza; <sup>3</sup>Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia, Italy

\*Corresponding author: norma.arrigoni@izsler.it

A seguito della rilevazione, nell'ambito dei controlli ufficiali previsti per i distributori automatici di latte crudo, di una contaminazione persistente del latte di massa da parte di *Listeria monocytogenes*, abbiamo sottoposto ad indagine batteriologica le 102 bovine in lattazione dell'allevamento, individuando una sola bovina con escrezione persistente di *Listeria*, nonostante il contenuto in cellule somatiche risultasse nella norma (125-135.000 CSS/mL). Andando ad esaminare singolarmente il latte dei quattro quarti, si evidenziava la presenza di *Listeria* nel latte del solo quarto anteriore destro, quantificabile in 90-210 UFC/mL, che presentava un contenuto in cellule somatiche di 299.000/mL. La bovina è stata sottoposta a terapia antibiotica mirata ripetuta, a seguito della quale il contenuto in cellule somatiche si è ridotto a 19.000/mL, pur persistendo l'escrezione di *Listeria* (300 UFC/mL). A seguito della macellazione della bovina, con immediata negativizzazione del latte di massa, *L. monocytogenes* è stata isolata dal parenchima mammario e dai relativi linfonodi. I 13 ceppi isolati nell'arco di un periodo di circa 3 mesi, dal latte del distributore, dal latte della bovina, dal parenchima mammario e dai linfonodi sopramammari sono

stati sottoposti ad analisi genetica, mediante PFGE e sequenziamento (Illumina MiSeq), per indagare la natura clonale della contaminazione. La PFGE ha confermato che tutti i ceppi di *Listeria monocytogenes* isolati avevano lo stesso profilo (LMAS\_PR.0069), indicando la clonalità dei ceppi, confermata anche dall'analisi degli SNPs. Infine, la comparazione del genoma dei ceppi isolati con quelli di ceppi di *Listeria* disponibili, ha confermato l'appartenenza al sierotipo 1/2a, a patogenicità nota per l'uomo.

## P20

### Determinazione di virus enterici e *Vibrio parahaemolyticus* in molluschi bivalvi vivi nella regione Sardegna

Giuseppe Tedde, Alessandro Mudadu, Giuseppa Lorenzoni, Gabriella Piras, Maria Teresa Uda, Antonella Canu, Riccardo Bazzardi\*

Laboratorio Microbiologia e Terreni Colturali, Dipartimento Igiene Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreffi, Sassari, Italy

\*Corresponding author: riccardo.bazzardi@gmail.com

I microrganismi del genere *Vibrio* sono abitanti autoctoni degli ecosistemi marini, per cui la loro presenza risulta essere associata maggiormente ai prodotti della pesca. *Escherichia coli* è usato come indicatore di inquinamento fecale delle acque adibite alla molluschicoltura e ad oggi, tuttavia, non è stata stabilita nessuna correlazione tra la presenza di questo microrganismo e la presenza di altri agenti patogeni quali virus e vibriani. Il Regolamento (CE) 2073/2005 fissa i criteri microbiologici per *E. coli* e *Salmonella* spp., mentre per gli altri microrganismi raccomanda l'istituzione di codici di condotta per le buone prassi igieniche. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la presenza dei virus enterici *Norovirus* (NoVs) e virus dell'Epatite A (HAV) e i microrganismi appartenenti alla famiglia delle *Vibrionaceae* nei molluschi bivalvi rispetto all'indicatore di contaminazione fecale *E. coli*. Sono stati analizzati un totale di 770 campioni costituiti dalle specie *Mytilus galloprovincialis*, *Tapes decussatus*, *Crassostrea gigas* e *Ostrea edulis*, raccolti a partire dal gennaio 2013 fino al maggio 2014 nei quattro più importanti siti di produzione della regione Sardegna. Sono stati rilevati i parametri ambientali quali la temperatura dell'acqua di mare, il pH, la salinità e l'ossigeno disciolto. Su ogni campione è stata determinata la presenza di *E. coli* utilizzando il metodo ISO/TS 16649-3:2005 e di *Vibrio parahaemolyticus* utilizzando il metodo ISO/TS 21872-1:2007. Per la ricerca di NoVs e HAV è stato adottato il metodo ISO 15216-2:2013. Il virus dell'Epatite A è risultato essere assente; la presenza di *E. coli* ha superato il limite di legge di 230 MPN/100g nel 10% dei campioni analizzati, due dei quali sono risultati provenire da Zone di classe A. La presenza di RNA virale appartenente al genere *Norovirus* genogruppo I è stata rilevata in un solo campione, il genogruppo GII in 110 campioni (14%). La prevalenza di *V. parahaemolyticus* è risultata bassa (2%), indipendentemente dalla tipologia di molluschi esaminata ma correlata al periodo invernale della ricerca. Il lavoro evidenzia la capacità di bioaccumulo, da parte di questi organismi, di *E. coli* ma soprattutto dei vibriani patogeni e dei virus enterici. Tuttavia, la difficoltà di isolamento dei ceppi evidenzia la necessità di ottimizzare ulteriormente protocolli di biologia molecolare, e il riscontro di *V. parahaemolyticus* e di NoVs nei molluschi bivalvi in mesi invernali e nelle stesse aree di produzione sug-

gerisce una stagionalità microbiologica e sito-ecologica da investigare ulteriormente.

## P21

### Monitoraggio sulla presenza di *Escherichia coli* produttori di Verocitotossine nella Regione Emilia Romagna: risultati del Piano Regionale Alimenti 2012-2013

Lia Bardasi,<sup>1\*</sup> Roberta Taddei,<sup>1</sup> Lucia Nocera,<sup>2</sup> Matteo Ricchi,<sup>1</sup> Giuseppe Merialdi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Bologna; <sup>2</sup>Regione Emilia Romagna, Bologna, Italy

\*Corresponding author: lia.bardasi@zslser.it

Nell'ambito del Piano Alimenti 2012-2013 della Regione Emilia Romagna, è stato introdotto il monitoraggio di *E. coli* verocitotossico (STEC) in diverse categorie di alimenti. Sono stati esaminati 689 campioni di carne e derivati e 273 campioni di frutta e ortaggi pronti al consumo, semi e semi germogliati. Le analisi sono state condotte tramite metodo ISOTS 13136. Il campione pre-aricchito è stato sottoposto a PCR *real time* per i geni codificanti Shigatossina 1 e 2 (stx1 e stx2) e per il gene *eae*. I campioni positivi per il gene stx2 sono stati testati per la presenza del gene associato al sierogruppo O104; i campioni positivi per presenza del gene stx1 e/o stx2 e del gene *eae* sono stati testati per i geni caratterizzanti i sierogruppi O157, O26, O111, O145, O103. Sui campioni risultati positivi ad un sierogruppo è seguita la fase microbiologica finalizzata all'isolamento del microrganismo. Nei campioni positivi alle fasi di rilevamento in PCR RT dai quali non è stato isolato il microrganismo, la presenza di *E. coli* STEC è stata considerata presuntiva. Fra i 689 campioni di carne 34 (4,9%) sono risultati positivi per i geni stx1 e/o stx2 e 46 (6,7%) per i geni stx1 e/o stx2 in associazione al gene *eae*. Quarantacinque (6,5%) campioni sono risultati positivi ad almeno un sierogruppo. In particolare i geni caratterizzanti i sierogruppi O103, O104, O111, O145, O157 ed O26 sono stati rilevati rispettivamente nell' 1,3, 0,3, 0,1, 3,9, 2,9 e 2,5% dei campioni; nello 0,6% dei campioni è stato isolato un ceppo di *E. coli* STEC (2 *E. coli* O103 *eae*+stx1+, 1 *E. coli* O157 *eae*+stx2+ed 1 *E. coli* O157 *eae*+stx1+, stx2+). Fra queste tipologie di alimenti è degna di nota l'elevata frequenza di rinvenimento di fattori di patogenicità di *E. coli* STEC (19%) in insaccati freschi di origine suina. Fra i 273 campioni di vegetali, in 4 (1,5%) è stata rilevata la presenza dei geni stx1 e/o stx2 e in 1 (0,4%) la presenza dei geni stx1 e/o stx2 in associazione con il gene *eae*; nessuno è risultato positivo per i sierogruppi testati. L'isolamento del microrganismo tramite esame colturale, necessario per confermare la presenza dei geni di virulenza e di sierogruppo nella stessa cellula batterica, ha premesso di confermare un numero molto ridotto di campioni. Risulta pertanto fondamentale, al fine della gestione del rischio, una piena consapevolezza del significato del risultato analitico.

## P22

### Ricerca di *Norovirus* e virus dell'Epatite A in alimenti destinati alla ristorazione commerciale e alla ristorazione collettiva nella regione Sardegna

Maria Caterina Fattaccio,\* Riccardo Bazzardi, Laura Marongiu, Sara Salza, Antonella Canu, Luisella Uras, Margherita Pisanu

Dipartimento di Igiene degli Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreffi, Sassari, Italy

\*Corresponding author: caterina.fattaccio@izs-sardegna.it

È noto ormai da tempo che negli ultimi anni i gusti e le abitudini alimentari degli italiani siano cambiati. Vengono sempre più apprezzati i piatti pronti *ready to eat*, non tanto per ragioni di risparmio economico, ma sempre più spesso per un guadagno di tempo. Inoltre l'introduzione di abitudini e specialità culinarie da culture orientali ha portato anche ad un aumento del consumo di prodotti ittici e di pesce crudo come per esempio il sushi e il sashimi. In Europa più del 40% dei pasti quotidiani ormai sono consumati *fuori casa*, intendendo con tale termine la ristorazione collettiva e la ristorazione commerciale. Da ciò nasce per i sistemi produttivi la necessità di preparare offerte gastronomiche che soddisfino il consumatore conservando ed esprimendo al meglio tanto le caratteristiche organolettiche del prodotto confezionato quanto i requisiti e i criteri di sicurezza alimentare. Infatti, il Regolamento (CE) 2073/2005 stabilisce i criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari, individuando specifici criteri di sicurezza e di igiene di processo ma, tale regolamento, non prevede la determinazione di virus enterici benché considerati la principale causa di gastroenteriti acute di origine non batterica nell'uomo. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare da Gennaio 2013 a Maggio 2014 la presenza di Norovirus (NoVs) e virus dell'Epatite A (HAV) in prodotti della pesca e in differenti tipologie di preparazioni gastronomiche confezionate e distribuite nella regione Sardegna. In ottemperanza con il Piano Regionale Integrato dei controlli ufficiali sulla sicurezza alimentare sono stati analizzati un totale di 48 campioni alimentari derivanti da differenti esercizi commerciali e mense scolastiche. L'analisi è stata condotta mediante applicazione di una metodica molecolare dove era previsto l'utilizzo di un protocollo one-step *Real Time RT-PCR* per la determinazione dei virus enterici. L'RNA virale è stato estratto mediante il kit NucliSENS® MiniMAG® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) e come controllo di processo è stato utilizzato un campione di Felino Calicivirus (FCV9). Le analisi effettuate hanno evidenziato la presenza di Norovirus genogruppo II solamente in un campione di pesce teleosteo (2%). Il virus dell'Epatite A non è stato rilevato in nessun campione alimentare analizzato. Il confronto tra le efficienze di estrazione e di amplificazione ottenute dalla analisi dei differenti campioni suggerisce che non ci sono state inibizioni da parte delle componenti intrinseche delle matrici alimentari stesse. Considerando il numero e la categoria alimentare dei campioni analizzati nella presente ricerca, si vuole evidenziare che le preparazioni gastronomiche investigate presentano un modesto livello di sicurezza alimentare. Sarebbe auspicabile infine sviluppare un metodo più sensibile ed automatizzabile per l'esame di un elevato numero di campioni. I limiti di applicabilità di questa metodica, come eventualmente la presenza di inibitori nel campione che possono interferire con la reazione di amplificazione, implicano la messa a punto di un più sensibile protocollo di estrazione per evitare la presenza di falsi negativi.

## Indice degli autori

Accurso Damiano	24	Bozzo Giancarlo	3,5,7,18
Acutis Pier Luigi	2,29	Branciarì Raffaella	1
Adriano Daniela	17	Britti Domenico	17
Agus Vanessa	3	Bruno Maria Violetta	3
Aliberti Enrico	22	Buscemi Maria Drusilla	5
Aliventi Alessandra	24	Cagnasso Daniela	19
Altissimi Serena	27	Cammi Giuliana	31
Anastasio Aniello	4	Cammilleri Gaetano	4,5
Andrighetto Christian	21	Cannavacciuolo Annunziata	24
Antignac Jean-Philippe	1	Canu Antonella	25,31,32
Arcangeli Giuseppe	9	Capocasa Piero	24
Arcuri Luigi	19	Capuano Federico	17
Arfuso Francesca	25	Cardamone Cinzia	19
Armani Mariachiara	12	Cardazzo Barbara	23,28
Arras Igor	25	Carloni Cristiano	6
Arrigoni Norma	1,14,31	Carosielli Leonardo	11
Astegiano Sara	22	Carraro Lisa	28
Baioni Elisa	22,29	Casella Stefania	28
Balzan Stefania	23,28	Cassani Francesco	19
Balzaretti Claudia Maria	21	Cattaneo Patrizia	26
Barbaro Antonio	22	Cecchini Matilde	5
Barbarossa Andrea	29	Ceci Edmondo	5
Barbieri Ilaria	28	Celano Gaetano Vitale	7
Bardasi Lia	24,32	Cenci-Goga Beniamino Terzo	16
Barone Francesca	6	Ceruso Marina	3,10
Battaglini Luca	22	Chéreau Sylvain	1
Battistini Roberta	26	Chessa Giannina	6
Bazzardi Riccardo	25,31,32	Chetta Michele	15
Belardo Viviana	19	Chianese Antonio	1
Bellio Alberto	17,22	Chiaravalle Antonio Eugenio	21
Beninati Chiara	3	Chiesa Francesco	17
Bernardi Cristian	13,26	Chirollo Claudia	3,10
Bertasi Barbara	14,2,28	Ciccarelli Cesare	24
Berti Giulia	23	Cicero Antonello	4,28
Bertocchi Luigi	8	Civera Tiziana	4,17
Bianchi Daniela Manila	17,22	Codini Michela	16
Bichon Emmanuelle	1	Collu Carlo	1
Biglia Claudio	29	Colombo Stefano	2
Bilei Stefano	19,2,27	Colonna Stefania	27
Boccia Federica	3	Condoleo Roberto	19
Bona Cristina	22	Consolati Simonetta Gianna	1,30
Bonerba Elisabetta	3,5,18	Conte Francesca	15,30
Bonfante Elena	24	Copat Chiara	3
Bonilauri Paolo	11,14	Cordioli Paolo	28
Boria Pier Paolo	27	Corsi Monica	26
Bortone Nicola	21	Cortesi Maria Luisa	1
Bossù Teresa	27	Cosciani-Cunico Elena	13,14
Botta Mario	29	Costa Antonella	5
Bottaro Marilisa	3,18	Costanza Claudia	5
Bottero Maria Teresa	4	Costanzo Nicola	17,18
Bovo Federica	23	Crinò Chiara	3
Bozzetta Elena	29	Currò Vittoria	4
		Dalmaso Alessandra	4

Dalzini Elena	14	Gazzotti Teresa	29
Daminelli Paolo	13,14	Gherri Giorgio	11
De Angelis Veronica	19	Giacometti Federica	5,14,24
De Cesare Alessandra	2,15	Giangrosso Giuseppe	4,5,25
De Medici Dario	2	Giarratana Filippo	3
De Santis Enrico Pietro Luigi	17,18	Gili Stefano	4
De Santis Laura	27	Gilli Maurizio	4
De Santis Paola	19,20	Girasole Mariagrazia	4,10
Debenedetti Francesco	4	Giuffrida Alessandro	3
Decastelli Lucia	17,22	Graci Stefania	5
Delibato Elisabetta	2	Gramaglia Monica	22
Dell'Aira Elena	27	Grembiale Rosa Daniela	17
Dell'Oro Daniela	21	Griffoni Francesco	6
Delogu Alida	27	Grilli Ester	24
Delogu Maria Luisa	11	Guarniero Ilaria	24
Delogu Mauro	24		
Di Domenico Ilaria	19	Hauet Naceur M.	27
Di Francesco Antonietta	24		
Di Loria Antonio	17	Iammarino Marco	21
Di Maro Orlandina	18	Ibba Ignazio	17
Di Marzio Violeta	29	Ibba Michela	18
Di Pinto Angela	3,5,18	Iulietto Maria Francesca	16
Di Trani Vittoria	24		
Disanto Chiara	7	Ladu Daniela	1
Ducoli Stefania	14	Lazzara Fabrizio	19
		Le Bizec Bruno	1
Ercolini Carlo	26	Leggeri Kurt	12
Erle Ilario	6	Liuzzo Gaetano	7
		Lochi Pier Giorgio	11
Fadda Antonio	13	Lombardi Angiolella	21
Fadda Antonio	13,27	Lombardi Giampiero	22
Faggio Caterina	25	Lombardi Guerino	28
Farabegoli Federica	29	Lombardo Dorotea	12
Fasolato Luca	23,28	Longo Sabrina	3
Fattaccio Maria Caterina	32	Lorenzoni Giuseppa	25,31
Fazio Francesco	25,28	Loschi Anna Rita	8,10
Fedrizzi Giorgio	24	Losio Marina Nadia	14,2,28
Ferrante Margherita	3	Lovari Sarah	19,20
Ferrantelli Vincenzo	4,5,15,25,28	Lucchi Alex	15,23
Ferrarini Stefano	6	Lucchini Rosaria	21
Figueras Maria José	1		
Fill Manfred	12	Macaluso Andrea	4
Fiorenza Gerlando	19	Macaluso Giusi	19
Fois Federica	1,11	Macori Guerrino	17
Fois Giuseppe	3	Magro Luciano	6
Fortino Gianluca	25	Malanga Maria	2
Frongia Giorgio	13	Mancusi Rocco	5
Fusi Francesca	8	Mancuso Isabella	19
Fustini Mattia	24	Mancuso Maria Rosalba	25
		Mandanici Alessandro	15
Gallart-Ayala Hector	1	Manfreda Gerardo	2,15
Gallina Albino	12	Manno Claudia	25,27
Gallina Silvia	17,22	Marchand Philippe	1
Galuppo Lucia	4	Marchetti Patrizia	3,18
Gariano Grazia Rosaria	22	Marcianò Rita	19
Gaspari Pasquale	9		

Marocco Maria Grazia	27	Palumbo Paola	5
Marongiu Andreina	27	Panebianco Antonio	3
Marongiu Edoardo	25	Pani Sergio Pino	11
Marongiu Laura	32	Panozzo Monica	6
Marozzi Selene	19,27	Paolazzi Gloria	21
Marrone Raffaele	3,4	Paolucci Ginevra	19
Masaro Simone	6	Parisi Alberto	22
Mascolo Celestina	4	Parisi Antonio	5,15
Mattei Sara	16	Pasquali Frédérique	23
Mazza Roberta	11	Paternolli Sabrina	21
Mazette Rina	1,11,30	Pattono Daniele	19
Meistro Serena	29	Pavoni Enrico	28
Melillo Rita	13	Pecchi Sabrina	19
Meluzzi Adele	23	Pedrolli Irene	21
Merialdi Giuseppe	11,24,32	Peletto Simone	2,29
Mezher Ziad	19	Pepe Tiziana	3
Miccolupo Angela	15	Petrella Letizia	6
Micheli Massimo Renato	11	Pezzolato Marzia	29
Migliore Giuseppina	27	Piccione Giuseppe	28
Miraglia Dino	1	Pinel-Dervilly Gaud	1
Miraglia Viviana	19	Piras Francesca	1,11,30
Modesto Paola	2,29	Piras Gabriella	31
Monastero Paola	14	Piras Pierluigi	6
Monteau Fabrice	1	Pisanu Margherita	32
Montemurro Filomena	28	Pizzamiglio Valentina	13
Morganti Marina	31	Pongolini Stefano	31
Mottola Anna	3,5,18	Porcarello Casimira	5
Mudadu Alessandro	25,31	Porcheddu Gabriella	3
Mura Elia	27	Porqueddu Giuseppa	27
Murari Riccardo	6	Prearo Marino	5,26
Murittu Gavino	17	Prencipe Vincenza	29
Murru Sandra	24	Prévost Stéphanie	1
Muscolino Daniele	3	Proroga Yolande Thérèse Rose	18
		Putzolu Miriam	11
Neri Diana	29		
Nocera Lucia	32	Rabini Michela	12
Nocetti Marco	13	Ramini Mattia	11
Noli Alessia Caterina	27	Ranucci David	1
Novelli Enrico	6,23,28	Ravanetti Emanuela	11
Novelli Sara	16	Ravidà Andrea	15
		Razzini Katia	21
Oberkalmsteiner Evelin	12	Rea Stefano	1
Oliveri Conti Gea	3	Ricchi Matteo	14,32
Olivi Pietro	23	Ricci Antonia	15
Orletti Roberta	6	Ricci Daniela	27
Ostanello Fabio	14	Ricci Vittoria	6
		Richelmi Guia	29
Pagliarone Cosimo Nicola	7	Rocculi Pietro	23
Pagliuca Giampiero	29	Rodas Sonia	21
Pala Carlo	18	Romani Chiara	2
Palazzo Carlo	22	Romani Marco	2
Palma Federica	15	Romantini Romina	29
Palma Giuseppe	4	Rosamilia Alfonso	11
Palmieri Patrizia	19	Rossi Claudia	27
Palombo Paolo	6	Rossi Maria Lucia	27

Rossini Irene	26	Taticchi Agnese	28
Rubinetti Francesca	22	Tedde Giuseppe	25,31
		Tedde Tiziana	1
Salza Sara	1,32	Tepedino Valentina	4
Sanna Antonietta	13	Terarolli Alessandra	26
Sanna Giovanna	25	Terio Valentina	3,18
Sanpieri Cinzia	19	Terrosu Giovanni	13
Santarelli Gino Angelo	29	Tilocca Maria Giovanna	25,27
Santoro Adriano Michele Luigi	17,18	Tilola Michela	2
Santuoccio Cinzia	25	Tirloni Erica	13,26
Sarno Eleonora	17,18	Tolli Rita	27
Sassera Davide	31	Traina Giovanna	16
Scaltriti Erika	31	Traversa Amaranta	22
Scaramella Lucia	19	Trevisani Marcello	5
Scarano Christian	17,18		
Scatassa Maria Luisa	19	Uda Maria Teresa	25,31
Schiavo Maria Rita	25,27	Uras Luisella	32
Sechi Paola	16		
Semeraro Angela Marisa	24	Varello Katia	29
Serracca Laura	26	Vargetto Daniela	4
Serraino Andrea	5,14,24,29	Varisco Giorgio	14
Settanni Luca	19	Varvara Michele	7
Sfameni Chiara	14	Velieri Francesco	6
Smaldone Giorgio	3,4	Verzera Antonella	15
Soro Paolo	1	Vicari Domenico	4
Spanu Carlo	17,18	Virdis Salvatore	17
Spanu Vincenzo	17,18	Virgilio Sebastiano	1,25
Sperandii Anna Franca	29	Vodret Bruna	25,27
Stancampiano Laura	24	Vollano Lucia	1
Stella Simone	13		
Stocchi Roberta	1	Ziino Graziella	3
Supino Di Lorenzo Alessandro	18	Zimmardi Antonina	25,27
		Zironi Elisa	29
Taddei Roberta	24,32	Zuccon Fabio	22
Tantillo Giuseppina	3,5		

PAGEPress - Scientific Publications  
Via G. Belli, 7 - 27100 Pavia - Italy  
Phone +39 0382 1751762 - Fax +39 0382 1750481  
[www.pagepress.org](http://www.pagepress.org)