

# IL COINVOLGIMENTO DEL MEDICO VETERINARIO IGIENISTA NEL CONTESTO ONE HEALTH

11 - 12 - 13 SETTEMBRE 2019 | PALAZZO ATENEO, SALONE DEGLI AFFRESCHI - BARI



BOOK OF ABSTRACTS



CON IL PATROCINIO DI



SI RINGRAZIA



Biolife





## **IL COINVOLGIMENTO DEL MEDICO VETERINARIO IGIENISTA NEL CONTESTO ONE HEALTH**

### **PRESIDENTE**

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

### **VICEPRESIDENTE**

Roberto Macrì (Servizio Veterinario Regione Calabria)

### **SEGRETARIO**

Christian Scarano (Università degli Studi di Sassari)

### **COMITATO SCIENTIFICO**

Aniello Anastasio (Università di Napoli Federico II)  
Gaetano Celano (Università di Bari)  
Beniamino Cenci Goga (Università di Perugia)  
Alessandro Giuffrida (Università di Messina)  
Alessandra Guidi (Università di Pisa)  
Adriana Ianieri (Università di Parma)  
Anna Rita Loschi (Università di Camerino)  
Enrico Novelli (Università di Padova)  
Andrea Serraino (Università di Bologna)  
Giuseppina Marilia Tantillo (Università di Bari)  
Gaetano Liuzzo (USL Modena)  
Roberto Macrì (Servizio Veterinario Regione Calabria)  
Domenico Mollica (Servizio Veterinario A.S.L. Sorrento)  
Teresa Bossù (Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana)  
Sebastiano Virgilio (IZS Sardegna)  
Giuseppe Palma (ASSOITTICA)

### **COMITATO ORGANIZZATORE**

Giuseppina Marilia Tantillo  
Gaetano Vitale Celano  
Angela Di Pinto  
Giancarlo Bozzo  
Edmondo Ceci  
Elisabetta Bonerba  
Angela Dambrosio  
Nicoletta Cristiana Quaglia  
Roberto Macrì  
Cosimo Montagna  
Giovanni Albergo  
Antonio Battafarano  
Sergio Apollonio  
Salvatore Cristofaro  
Maria Bruzzese  
Maria Valeria Convertini  
Maurizio Ribezzo

*Revisione degli abstract a cura dei Professori:  
Giuseppina Tantillo, Alessandro Giuffrida, Alessandra Guidi,  
Gerardo Manfreda, Enrico Novelli*

## Comunicazioni Scientifiche

■ MERCOLEDÌ 11 SETTEMBRE 2019

### I Sessione

<b>Rischi e criticità correlati al ritrovamento in commercio di specie aliene vive non autorizzate sul territorio italiano: granchio cinese (<i>Eriocheir sinensis</i>)</b> .....	1
Federica Maria Sessa, Luca Cianti, Nicola Brogelli, Lara Tinacci, Alessandra Guidi	
<b>Caratterizzazione degli effetti delle fluttuazioni termiche sulla conservabilità di una semiconserva di polpo</b> .....	1
Filippo Giarratana, Luca Nalbone, Graziella Ziino, Alessandro Giuffrida, Antonio Panebianco	
<b>Decontaminazione mediante ultrasuoni in salmone affumicato contaminato sperimentalmente con <i>Listeria monocytogenes</i>: risultati preliminari</b> .....	2
Luca Pennisi, Daniele Di Clerico, Luigi Costantini, Anna Rita Festino, Alberto Vergara	
<b>Livelli di distribuzione del mercurio totale in differenti parti e tipo di muscolo del tonno rosso (<i>Thunnus thynnus</i>): studio finalizzato alla stesura di una procedura di campionamento rappresentativo in esemplari interi di grandi partite</b> .....	2
Pierluigi Piras, Antonino Bella, Maurizio Cossu, Gianuario Fiori, Andrea Sanna, Giannina Chessa	
<b>Valutazione delle modalità di commercializzazione e detenzione di crostacei vivi (astici americani) ai fini della vendita come alimenti: prime valutazioni sul territorio piemontese</b> .....	3
Daniele Pattono, Elisa D'Agui, Marta Fidelio, Bartolomeo Griglio, Stefano Gili, Tiziana Civera	
<b>Applicazione della metagenomica <i>shotgun</i> a salmone affumicato inoculato sperimentalmente con batteri, virus e parassiti: confronto tra abbondanza delle sequenze e concentrazione delle cellule inoculate mediante quattro software di analisi bioinformatica</b> .....	3
Alessandra De Cesare, Chiara Oliveri, Alex Lucchi, Frederique Pasquali, Gerardo Manfreda	
<b>Analisi comparativa del mitogenoma completo di alcune specie di sparidi e valutazione di un nuovo marker molecolare per <i>Pagellus erythrinus</i></b> .....	4
Marina Ceruso, Celestina Mascolo, Iolanda Venuti, Giorgio Smaldone, Rosa Luisa Ambrosio, Paolo Sordino, Tiziana Pepe	

### II Sessione

<b>Influenza della stagionalità sulla presenza di <i>Dinophysis</i> spp. e accumulo di acido okadaico in molluschi bivalvi allevati in Sardegna (Italia)</b> .....	5
Alessandro Graziano Mudadu, Anna Maria Bazzoni, Giuseppa Lorenzoni, Barbara Soro, Nadia Bardino, Igor Arras, Giovanna Sanna, Riccardo Bazzardi, Bruna Vodret, Sebastiano Virgilio	
<b>Studio retrospettivo sui controlli microbiologici nei molluschi bivalvi provenienti dall'area dei Laghi di Torre Faro e di Ganzirri di Messina, periodo 2015-2018</b> .....	5
Michele Fiasconaro, Maria Vitale, Giovanna Carbone, Mary Zanghì, Flavia Pruiti, Dorotea Ippolito, Santi La Macchia, Vincenzo Di Marco Lo Presti	
<b>Analisi del <i>sanitary survey</i> 2015-2017 condotto nel golfo della Spezia: riclassificazione delle zone di produzione di molluschi bivalvi vivi</b> .....	6
Erica Costa, Alice Giusti, Alice Traina, Daniele Nucera, Patrizia Serratore, Mino Orlandi, Andrea Armani	
<b>Fioriture algali di <i>Alexandrium</i> spp. in impianti di miticoltura ed eventi di tossicità da PSP (<i>Paralytic Shellfish Poisoning</i>) in molluschi bivalvi allevati in Sicilia</b> .....	6
Antonella Costa, Vincenzina Alio, Sonia Sciortino, Luisa Nicastro, Monica Cangini, Fiorella Pino, Irene Servadei, Sonia Dall'Ara	
<b>Messa a punto di metodi per la concentrazione di <i>Norovirus</i> GI e GII e virus dell'epatite A in diverse matrici idriche e loro rilevazione mediante <i>real-time</i> PCR</b> .....	7
Giuseppe Aprea, Daniela D'Angelantonio, Serena Iachini, Miriam Berti, Silvia Scattolini, Arianna Boni, Francesco Pomilio, Giacomo Migliorati, Nicola Ferri, Luciana Giovannetti, Nicola D'Alterio	
<b>Piattaforma italiana per la segnalazione dei rischi emergenti</b> .....	7
Paolo Daminelli, Stefano Pongolini, Silvia Todeschi, Giorgio Varisco	
<b>I provvedimenti in caso di non conformità alla normativa in materia di sicurezza alimentare: valutazioni tecniche e giurisprudenza</b> .....	8
Alfredo Rossi, Giovanni Rossi, Alfonso Rosamilia, Massimo Renato Micheli	

## ■ GIOVEDÌ 12 SETTEMBRE 2019

### I Sessione

<b>Effetto del processo produttivo e del trattamento ad alte pressioni sulla contaminazione da <i>Salmonella</i> spp. nella coppa</b> .....	8
Roberta Taddei, Federica Giacometti, Lia Bardasi, Paolo Bonilauri, Mattia Ramini, Maria Cristina Fontana, Patrizia Bassi, Sara Castagnini, Francesco Ceredi, Maria Francesca Pelliconi, Andrea Serraino, Silvia Piva, Elisabetta Mondo, Giuseppe Merialdi	
<b>Potenziale di crescita di <i>Listeria monocytogenes</i> in campioni di lingua in salsa verde confezionata in atmosfera modificata</b> .....	8
Erica Tirloni, Francesco Pomilio, Vanessa Di Pietro, Mauro Vasconi, Cristian Bernardi, Simone Stella	
<b>Valutazione dell'effetto antimicrobico di <i>Cannabis sativa</i> su batteri patogeni di interesse zoonosico e su batteri indicativi di igiene di processo in carne macinata conservata a temperature di refrigerazione</b> .....	9
Frederique Pasquali, Marco Schinzari, Alex Lucchi, Alessandra De Cesare, Gerardo Manfreda	
<b>Produzione di insaccati crudi stagionati mediante aggiunta diretta di nitrati di origine vegetale</b> .....	9
Luca Pennisi, Enrica Verocchi, Domenico Paludi, Alberto Vergara	
<b>Restrizione territoriale dell'infezione da virus dell'epatite E in cinghiali cacciati in Emilia-Romagna</b> .....	10
Silvia Bonardi, Virginia Filipello, Enrico Pavoni, Valentina Carta, Margherita Corradi, Stefano Gilioli, Marina Nadia Losio	
<b>Valutazione dell'influenza dello stordimento sul benessere animale durante le macellazioni religiose</b> .....	10
Roberta Barrasso, Elisabetta Bonerba, Edmondo Ceci, Antonio Alò, Anna Mottola, Patrizia Marchetti, Gaetano Vitale Celano, Giancarlo Bozzo	
<b><i>Staphylococcus aureus</i> meticillino-resistente nella filiera suinicola: prevalenza ed epidemiologia molecolare</b> .....	11
Ancuta Cezara Simon, Valentina Baldo, Nadia Losio, Virginia Filipello, Angelo Colagiorgi, Federico Scali, Emanuela Zanardi, Sergio Ghidini, Adriana Ianieri, Giovanni Loris Alborali	

### II Sessione

<b>La classificazione delle carcasse bovine: nuovi metodi di telerilevamento biometrico</b> .....	12
Laura Stinga, Giancarlo Bozzo, Gigliola Ficco, Alessandra Emilia Savarino, Roberta Barrasso, Giuseppina Tantillo	
<b>La macellazione del suino a domicilio nella penisola sorrentina: quadri anatomopatologici riscontrati all'esame post-mortem e risultati degli esami batteriologici</b> .....	12
Domenico Mollica, Yolande Thérèse Rose Proroga, Francesco Cacace, Daniela Cristiano	
<b>Shelf life di hamburger di carne bovina additivati con estratti vegetali</b> .....	13
Raffaele Marrone, Giorgio Smaldone, Rosa Luisa Ambrosio, Lucia Vollano, Marina Ceruso, Aniello Anastasio	
<b>Nuovi approcci analitici per la determinazione e quantificazione di <i>Campylobacter</i> in prodotti tipici di origine animale</b> .....	13
Maria Francesca Peruzy, Yolande Thérèse Rose Proroga, Federico Capuano, Federica Corrado, Serena Santonicola, Dario De Medici, Elisabetta Delibato, Nicoletta Murru	
<b>Il sistema fresco-caldo e il secondo principio della termodinamica nella ristorazione collettiva: risultati preliminari</b> .....	14
Marta Castrica, Katia Razzini, Sara Panseri, Claudia Balzaretto	
<b>Sicurezza alimentare nella ristorazione collettiva: conoscenza e corretta applicazione delle <i>Good Hygiene Practices</i> e <i>Good Manufacturing Practices</i> da parte degli operatori addetti alla ristorazione</b> .....	14
Chiara Disanto, Angela Dambrosio, Nicoletta Quaglia, Giancarlo Bozzo, Saverio Tangorre, Antonio Tritto, Gaetano Vitale Celano	



## ■ VENERDÌ 13 SETTEMBRE 2019

### I Sessione

<b>Isolamento di <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> in una bovina affetta da mastite: un potenziale pericolo trasmesso dal latte</b> . . . . .	15
Andrea Lorusso, Luciana Addante, Loredana Capozzi, Angelica Bianco, Laura Del Sambro, Maria Ester Gallitelli, Antonio Parisi	
<b>Infezione da <i>Mycobacterium caprae</i> in tre allevamenti di bovini da latte in Emilia-Romagna</b> . . . . .	15
Rossella Magnani, Mauro Cavalca, Marco Pierantoni, Andrea Luppi, Alice Prosperi, Maria Pacciarini, Mariagrazia Zanon, Marco Tamba, Silvia Bonardi	
<b>Definizione del cut-off epidemiologico per la valutazione dell'antibiotico resistenza di <i>Staphylococcus aureus</i> nella produzione del latte di pecora</b> . . . . .	16
Vincenzo Spanu, Francesca Piras, Christian Scarano, Salvatore Viridis, Maria Pina Meloni, Giuliana Siddi, Enrico Pietro Luigi De Santis, Carlo Spanu	
<b>Enterococchi in campioni di latte ovino e bovino: caratterizzazione e antibiotico-resistenza</b> . . . . .	16
Marisa Palmeri, Isabella Mancuso, Luigi Arcuri, Barreca Santino, Barbaccia Pietro, Luca Settanni, Maria Luisa Scatassa	
<b>Multi-locus sequence typing e profilo di virulenza in stipti di <i>Bacillus cereus sensu lato</i> isolati da prodotti lattiero-caseari</b> . . . . .	17
Angelica Bianco, Loredana Capozzi, Angela Miccolupo, Simona Iannetti, Maria Luisa Danzetta, Laura Del Sambro, Marta Caruso, Gianfranco Santagada, Antonio Parisi	
<b>Determinazione del tasso massimo di crescita di <i>Listeria monocytogenes</i> in ricotte salate ovine porzionate</b> . . . . .	17
Anna Maria Mocchi, Vincenzo Spanu, Francesca Piras, Carlo Spanu, Kieran Jordan, Mariella Demontis, Enrico Pietro Luigi De Santis, Christian Scarano	
<b>Indagine sul contenuto in ammine biogene nel Fiore Sardo DOP e relazioni con i parametri chimico-fisici e di composizione</b> . . . . .	18
Gavina Manca, Antonio Ru, Giuliana Siddi, Anna Maria Mocchi, Gavino Murittu, Enrico Pietro Luigi De Santis	

### II Sessione

<b>Valutazione dei fattori che concorrono alla definizione del coefficiente di concentrazione dell'aflatossina M1 nei formaggi</b> . . . . .	19
Rossana Roila, Raffaella Branciar, Ivan Pecorelli, David Ranucci, Andrea Valiani	
<b>Efficacia del controllo ufficiale mediante <i>audit</i> nei caseifici del territorio dell'ASL T04</b> . . . . .	19
Maria Natalia Mossi, Luca Nicolandi, Francesco Chiesa, Pierluigi Aldo Di Ciccio, Daniele Michele Nucera, Tiziana Civera	
<b>Presenza di principi attivi ad attività antimicrobica nel miele pugliese: probabile "inquinamento antibiotico ambientale"</b> . . . . .	20
Elisabetta Bonerba, Roberta Barrasso, Edmondo Ceci, Alessandra Emilia Savarino, Sara Panseri, Luca Maria Chiesa, Valentina Terio	
<b>Mieli biologici e sicurezza alimentare: distribuzione di contaminanti organici persistenti, pesticidi e residui di antibiotici da aree produttive caratterizzate da diverse fonti di contaminazione</b> . . . . .	20
Maria Nobile, Sara Panseri, Marta Castrica, Claudia Balzaret, Francesco Arioli, Elisabetta Bonerba, Giuseppina Tantillo, Luca Chiesa	
<b>Presenza e caratterizzazione di <i>Arcobacter</i> spp. in ortaggi di IV gamma prodotti in Italia meridionale</b> . . . . .	21
Anna Mottola, Giuseppina Ciccarese, Carla Sinisi, Alessandra Emilia Savarino, Patrizia Marchetti, Valentina Terio, Giuseppina Tantillo, Roberta Barrasso, Angela Di Pinto	
<b>Sperimentazione su robiola esposta per la vendita in banchi frigo della grande distribuzione</b> . . . . .	21
Nicoletta Vitale, Annalisa Costa, Daniela Manila Bianchi, Lucia Decastelli, Gabriele Bono, Antonio Barbaro, Annamaria Gallegiante, Laura Chiavacci, Maria Mancini, Luigi Lanni, Elisa Goffredo	
<b>Attività antimicrobica di composti stilbenici di sintesi chimica</b> . . . . .	22
Giacomo Rovelli, Luce Mattio, Andrea Pinto, Sabrina Dallavalle, Marcello Iriti, Lisa Vallone	

## Sessione Poster

## ■ MERCOLEDÌ 11 SETTEMBRE 2019

<b>Sviluppo di tecnologia <i>loop-mediated isothermal amplification</i> per la determinazione di <i>V. vulnificus</i>. Dati preliminari</b> .....	23
Luna Lorigo, Giorgia Bignami, Emanuele Zavatta, Giorgia Caruso, Patrizia Serratore	
<b>Metodologie innovative per l'identificazione di carni separate meccanicamente: le tre tecniche sviluppate dal progetto "MPSQA"</b> .....	23
Marco Iammarino, Rogerta Dalipi, Emanuele Sangiorgi, Michele Tomaiuolo, Michele Mangiacotti, Oto Miedico, Antonio Eugenio Chiaravalle	
<b>Sviluppo e applicazione di un nuovo metodo analitico mediante HPLC/UV-DAD per i controlli sull'impiego dei coloranti nelle carni fresche e nei prodotti carnei</b> .....	24
Marco Iammarino, Annalisa Mentana, Diego Centonze, Carmen Palermo, Michele Mangiacotti, Antonio Eugenio Chiaravalle	
<b>Cromo, nichel e vanadio nei molluschi bivalvi e nei gasteropodi marini...questi sconosciuti</b> .....	24
Ersilia Maria Epifanio, Ivan Corti, Francesca Barchiesi, Stefano Rea, Anna Rita Loschi, Mario Latini	
<b>Persistenza di <i>Salmonella typhimurium</i> e <i>Listeria monocytogenes</i> in larve di <i>Hermetia illucens L.</i>, e <i>Tenebrio molitor L.</i></b> .....	25
Giovanni Pupillo, Paolo Gigante, Ida Treglia, Annalisa Grisendi, Francesco Defilippo, Michele Dottori, Paolo Bonilauri	
<b>Insetti ad uso edibile: assorbimento e bioaccumulo di cadmio in larve di <i>Hermetia illucens</i> ed effetti sul suo ciclo vitale</b> .....	25
Francesco Defilippo, Annalisa Grisendi, Paolo Gigante, Giovanni Pupillo, Michele Curatolo, Michele Dottori, Paolo Bonilauri	
<b>Iter operativo del servizio igiene degli alimenti di origine animale dell'Area Vasta n. 4 di Fermo ai fini della pianificazione ed esecuzione degli <i>audit</i> sul benessere animale alla macellazione: contributo pratico</b> .....	26
Loredana Di Giacomo, Antonio Angellotti, Gabriela Cicaleni, Ezio Ferretti, Sandro Fichera, Valentina Gentili, Francesco Livini, Luigi Marilungo, Flavio Pasquali, Angeliki Riganatou, Simonetta Ruggeri, Anna Rita Loschi, Roberta Stocchi	
<b>Filiera produttiva di insetti ad uso <i>feed &amp; food</i>: analisi e definizione del profilo di rischio</b> .....	26
Francesco Chiesa, Pierluigi Di Ciccio, Selene Rubiola, Tiziana Civera, Nicola Piumatti, Ausilia Grassi	
<b><i>Street food</i>: indagine sul livello di formazione dell'operatore del settore alimentare</b> .....	27
Francesco Chiesa, Pierluigi Di Ciccio, Tiziana Civera, Francesco Federico Bisogno, Ausilia Grassi	
<b>Esempio di applicazione di metodiche innovative per lo studio dei fattori favorenti la tossinogenesi in un focolaio di intossicazione alimentare</b> .....	27
Guido Finazzi, Virginia Filipello, Chiara Campanella, Barbara Bertasi, Irene Bertoletti, Massimo Campagnani, Angelo Romano, Lucia Decastelli, Marina Nadia Losio	
<b>Messa a punto e validazione di una metodica in <i>real-time</i> PCR per la determinazione di <i>Clostridium tyrobutyricum</i></b> .....	28
Sara Arnaboldi, Barbara Bertasi, Elisa Galuppini, Lucia Mangeri, Michela Tilola, Anna Zelioli, Daniela Bassi, Pier Sandro Cocconcetti, Angelo Stroppa	
<b>Caratterizzazione mediante <i>pulsed-field gel electrophoresis</i> dei sierotipi di <i>Salmonella</i> emergenti sul territorio piemontese</b> .....	28
Clara Tramuta, Daniela Manila Bianchi, Silvia Gallina, Irene Ferrero, Lucia Decastelli	
<b>Valutazione del rischio per <i>Listeria monocytogenes</i> in coppa di testa</b> .....	29
Chrystalleni Hadjicharalambous, Luca Grispoldi, Paola Sechi, Beniamino Cenci Goga	
<b>Tecnica rapida per la caratterizzazione d'origine geografica di acciughe salate</b> .....	29
Maria Olga Varrà, Emanuela Zanardi, Sergio Ghidini, Adriana Ianieri	
<b>Studio di <i>shelf life</i> riguardante <i>Listeria monocytogenes</i> in prodotti <i>ready-to-eat</i>: potenziale di crescita e probabilità tempo-dipendente</b> .....	30
Manuela Del Torre, Pierluigi Polese, Mara Lucia Stecchini	
<b>Monitoraggio di <i>Norovirus</i> in molluschi eduli lamellibranchi prelevati lungo la costa dell'Adriatico centrale nel 2018</b> .....	30
Giuseppe Aprea, Silvia Scattolini, Daniela D'Angelantonio, Arianna Boni, Francesco Pomilio, Giacomo Migliorati, Nicola D'Alterio	

<b>Valutazione della prevalenza di ceppi di <i>E. coli</i> verocitotossici in bovino e suini al macello</b> .....	31
Santa Girardi, Andrea Mancusi, Daniela Cristiano, Davide Cardinale, Marco Trotta, Michele Scotti, Carmelo Cavallo, Yolande Thérèse Rose Proroga	
<b>Valutazione dell'igiene di macellazione di suini e bovini effettuata mediante campionamento non distruttivo: dati preliminari</b> .....	31
Daniela Cristiano, Yolande Thérèse Rose Proroga, Silvia Castellano, Giacomo Peres, Antonio Di Maio, Debora Cozza, Immacolata La Tela, Federico Capuano	
<b>Valutazione del profilo microbiologico e chimico in un impianto pilota per la coltivazione di spirulina</b> .....	32
Pierina Visciano, Maria Schirone, Gabriella Di Serafino, Matteo Moglie, Antonello Paparella	
<b>Evoluzione delle caratteristiche microbiologiche e chimico-fisiche in <i>Longissimus dorsi</i> di scottona marchigiana durante un processo di <i>dry aging</i> in condizioni controllate</b> .....	32
Maria Schirone, Pierina Visciano, Maria Martuscelli, Maurizio De Benedictis, Antonello Paparella	
<b>One-step digital PCR e one-step real-time PCR a confronto per la rilevazione di virus enterici a trasmissione alimentare sulle superfici a contatto con alimenti</b> .....	33
Lucia Mangeri, Roberto Benevenia, Elisa Galuppini, Michela Tilola, Francesca Meletti, Barbara Bertasi	
<b>Etichette ingannevoli? Alcune riflessioni</b> .....	33
Enrico Novelli, Luca Fasolato, Federico Fontana, Lisa Carraro, Barbara Cardazzo, Stefania Balzan	
<b>Isolamento e identificazione di <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Klebsiella</i> spp. da vegetali di IV gamma</b> .....	34
Alessandra Cornacchia, Maria Antonietta Saletti, Violeta Di Marzio, Gabriella Centorotola, Cristina Marfoggia, Domenico Galante, Francesco Pomilio	
<b>Contaminazione ambientale da <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Klebsiella</i> spp. in stabilimenti di produzione alimentare</b> .....	34
Violeta Di Marzio, Salvatore Antoci, Vicdalia Acciari, Gabriella Centorotola, Cristina Marfoggia, Alessandra Cornacchia, Maria Antonietta Saletti, Francesco Pomilio	
<b>Trascinamento di <i>Listeria monocytogenes</i> durante le operazioni di taglio manuale di forme di formaggio gorgonzola</b> .....	35
Diana Neri, Gabriella Centorotola, Patrizia Tucci, Giacomo Migliorati, Francesco Pomilio	
<b>Risultati preliminari dell'indagine sulla temperatura dei frigoriferi domestici in Abruzzo e Molise</b> .....	35
Salvatore Antoci, Francesco Pomilio, Giorgio Galletti, Nicoletta Vitale, Stefania Calò, Silvia Todeschi, Cristina Marfoggia, Daniela D'Angelantonio, Giacomo Migliorati, Paolo Daminelli	
<b>Qualità microbiologica di prodotti lattiero-caseari in un caseificio marchigiano</b> .....	36
Antonello Paparella, Maria Schirone, Alberto Maria Aldo Olivastri, Pierina Visciano	
<b>Il controllo del disegno igienico come attività di medicina preventiva</b> .....	36
Roberta Bervini, Amaranta Traversa, Guido Bruatto, Emanuele Osella, Francesca Rubineti, Claudio Biglia	
<b>Valutazione della contaminazione da metalli pesanti in cinghiali cacciati in Liguria</b> .....	37
Roberta Nuvoloni, Omar Benini, Francesca Pedonese	
<b>Studio sui potenziali pericoli microbiologici, biotossicologici e chimici legati al consumo di alghe</b> .....	37
Silva Rubini, Simonetta Menotta, Enea Ferlizza, Giorgio Fedrizzi, Gloria Isani, Domenico Gigliotti, Marina Nadia Losio, Filippo Spinardi, Sonia Molesini, Sabrina Sciabica, Stefano Manfredini, Andrea Serraino, Federica Giacometti	



Non-commercial use only

## IL COINVOLGIMENTO DEL MEDICO VETERINARIO IGIENISTA NEL CONTESTO ONE HEALTH

11 - 12 - 13 SETTEMBRE 2019 | PALAZZO ATENEI, SALONE DEGLI AFFRESCHI - BARI



### COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

#### I Sessione

##### C001

#### Rischi e criticità correlati al ritrovamento in commercio di specie aliene vive non autorizzate sul territorio italiano: granchio cinese (*Eriocheir sinensis*)

Federica Maria Sessa\*, Luca Cianti, Nicola Brogelli, Lara Tinacci, Alessandra Guidi

Dipartimento di Scienze Veterinarie Università di Pisa, Azienda USL Toscana Centro, Italia

*Eriocheir sinensis*, Granchio cinese, (DM n° 19105 del 22 settembre 2017) o Chinese Mitten Crab è una specie catadroma appartenente alla famiglia Varunidae, originaria di aree fluviali ed estuarine del Nord e Sud Est della Cina e della Corea. A livello Europeo, *E. sinensis* è ampiamente diffuso nei principali bacini idrici del Centro e Nord Europa e, dal 2016, è inserito nella lista delle specie invasive di rilevanza unionale sottoposte a misure di confinamento ed eradicazione che includono il divieto di allevamento, transito ed immissione sul mercato di esemplari vivi (Reg UE n. 1143/2014). Il Granchio cinese può rappresentare un pericolo significativo per l'ecosistema locale e per il biota autoctono oltre a concorrere alla comparsa di fenomeni di dissesto idrogeologico conseguenti all'intensa attività di scavo ed erosione degli argini fluviali. Il presente studio, sviluppato a seguito del sequestro di una partita di *E. sinensis* nell'ambito dell'attività di vigilanza e controllo dell'autorità competente, ha avuto lo scopo di analizzare i rischi sanitari ed ambientali correlati all'introduzione della specie sul territorio nazionale e all'individuazione di possibili canali di importazione non autorizzata al fine di definire criticità ed azioni preventive. Il primo ritrovamento di 5 kg di esemplari vivi di *E. sinensis* è stato registrato in sede di controllo ufficiale da parte dell'UFS sanità pubblica veterinaria e sicurezza alimentare dell'ASL Toscana centro presso un esercizio di ristorazione etnica. Gli esemplari sono stati sottoposti a sequestro, fotografati, identificati morfologicamente, e sottoposti ad eutanasia e distruzione conformemente ai requisiti europei in materia di benessere e gestione dei sottoprodotti di origine animale. I dati relativi alla presenza di *E. sinensis* in Italia sono pochi e collegati a singoli soggetti catturati accidentalmente. Il commercio di esemplari di *E. sinensis* vivi potrebbe essere collegato alla richiesta da parte di ristoranti etnici presenti sul territorio in quanto questo granchio è una specialità tipica della cucina asiatica. Dal punto di vista igienico sanitario i pericoli associati al consumo di questo granchio sono prevalentemente di carattere biologico e chimico. Tra i pericoli biologici è da sottolineare quello parassitario in quanto ospite intermedio di *Paragonimus westermani*, tuttavia il consumo tipicamente cotto è un metodo efficace di prevenzione. Al contrario, rischi chimi-

ci derivanti da bioaccumulo di metalli pesanti e contaminanti organici non possono essere controllati tramite la cottura e sono collegati all'origine del prodotto. L'analisi sull'origine ha evidenziato l'esistenza di centri di raccolta intraeuropei e canali di vendita online potenzialmente utilizzabili per la commercializzazione di esemplari vivi. Lo studio quindi, ha portato alla luce una criticità finora non valutata che deve essere attentamente definita sia in termini di sicurezza alimentare che ambientale. Si richiede una specifica valutazione del rischio associato alla vendita di esemplari non controllati o provenienti da aree di cattura con elevata contaminazione ambientale ed un approfondimento finalizzato alla definizione di piani di monitoraggio delle potenziali vie di ingresso della specie. In questo contesto, risulta fondamentale la comunicazione del rischio, non solo a livello delle autorità competenti di settore, ma anche a livello dei consumatori.

##### C002

#### Caratterizzazione degli effetti delle fluttuazioni termiche sulla conservabilità di una semiconserva di polpo

Filippo Giarratana, Luca Nalbone, Graziella Ziino, Alessandro Giuffrida\*, Antonio Panebianco

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

Lo scopo del presente lavoro è quello di caratterizzare gli effetti delle fluttuazioni della temperatura, in corso di stoccaggio, sulla conservabilità di una semiconserva di polpo affettata e confezionata sottovuoto. 48 confezioni di prodotto sono state sottoposte a conservazione sperimentale in tre differenti regimi termici: i)  $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (Gruppo "4"); ii)  $8 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (Gruppo "8"); iii) temperatura fluttuante tra  $2^\circ\text{C}$  a  $14^\circ\text{C}$  (Gruppo "F"). Per ognuno dei 3 gruppi si effettuava, dopo 0, 7, 14, 23, 34 e 44 giorni dal confezionamento, la determinazione di pH e AW, la conta della carica batterica su Iron Agar (SSO), delle *Enterobacteriaceae* e delle *Pseudomonadaceae*, oltre che una valutazione sensoriale mediante l'assegnazione di un punteggio di demerito da 10 a 0, per quanto attiene al colore, odore e sapore. Le curve di crescita registrate per le *Pseudomonadaceae* (maggiormente correlate al deperimento dei prodotti, sono state riprodotte per mezzo di un modello predittivo convenzionalmente composto da un modello primario e da un appropriato modello secondario. Detto sistema veniva, inizialmente, validato mediante la riproduzione delle curve medie dei Gruppi "4" e "8". Si procedeva, dunque, all'impiego del modello per la predizione del comportamento delle *Pseudomonadaceae* per il Gruppo F, utilizzando l'intero campo delle fluttuazioni registrate ed ottenendo, anche in questo caso, un buon fitting ai dati reali. Si effettuava, infine, la riproduzione dei dati del Gruppo F applicando due diversi approcci; nel primo caso si sceglieva il valore medio delle temperature registrate nel corso delle fluttuazioni ( $6,72^\circ\text{C}$ ) mentre, nel secondo, si applicava un altro valore di T, derivante dal calcolo della temperatura cinetica media (7.83). Le risultanze analitiche, incro-

ciate con i dati sensoriali, hanno evidenziato, come era attendibile, una maggiore conservabilità dei prodotti conservati a 4°C rispetto a quelli mantenuti a 8°C e a temperatura fluttuante, sebbene questi ultimi abbiano fatto registrare un decadimento leggermente più lento rispetto a quelli del "Gruppo 8". L'applicazione dei modelli predittivi ha permesso di riprodurre piuttosto fedelmente i comportamenti microbici a 4°C e 8°C così come anche per quanto attiene al regime di temperatura fluttuante, dimostrando la grande duttilità dei modelli dinamici nel contesto della previsione del comportamento batterico in ambito di fluttuazioni delle condizioni ambientali. La risoluzione del modello predittivo impiegando la T cinetica media ha fornito fitting migliori a quelli ottenuti applicando la T media, dimostrando, dunque, come tale parametro possa meglio esprimere l'entità di eventuali abusi termici derivanti da ampie fluttuazioni della temperatura, nel corso di stoccaggi prolungati.

### C003

#### Decontaminazione mediante ultrasuoni in salmone affumicato contaminato sperimentalmente con *Listeria monocytogenes*: risultati preliminari

Luca Pennisi<sup>1\*</sup>, Daniele Di Clerico<sup>2</sup>, Luigi Costantini<sup>1</sup>, Anna Rita Festino<sup>1</sup>, Alberto Vergara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Teramo; <sup>2</sup>Next Cooking Generation S.r.l., Alba Adriatica (TE), Italia

Obiettivo del presente lavoro è stato quello di investigare gli effetti degli ultrasuoni (sonicazione) e della loro combinazione con la temperatura (termosonicazione) sull'inattivazione di ceppi di *Listeria monocytogenes* in salmone affumicato. N. 120 campioni di salmone affumicato sono stati contaminati con un mix composto da n. 4 ceppi di *Listeria monocytogenes* (LM ATCC 19114, LM ATCC 15313, LM ATCC 19111 e LM ATCC 7644). La concentrazione finale dell'inoculo, di 8 log ufc/g, è stata determinata attraverso una lettura allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 550 nm. I campioni contaminati venivano, quindi, sottoposti a sonicazione (a 20°, 25° e 30°C) e termosonicazione (40° e 50°C) per 5, 10 e 15 minuti, ad una frequenza di 40 kHz mediante Waveco®, bagno ultrasonico con una capacità di 30 litri (Next Cooking Generation S.r.l., Alba Adriatica). Durante ogni sessione sperimentale sono stati prelevati n. 3 campioni prima e n. 5 campioni dopo il trattamento per valutarne il grado di contaminazione iniziale e l'efficacia decontaminante. Tutte le determinazioni sono state condotte mediante ISO 11290-2. Il tasso di decontaminazione in salmone affumicato, inoculato con il mix di *Listeria monocytogenes*, alle cinque temperature era meno evidente alle temperature di 20° e 25°C rispetto alle temperature di 30°, 40° e 50°C. Il maggior tasso di inattivazione è stato ottenuto nelle seguenti combinazioni di tempo e temperatura, 2,02, 2,12 e 2,44 log ufc/gr a 30°C per 15 min., a 40°C per 15 min., e a 50°C per 5 min., rispettivamente. I dati ottenuti nel presente lavoro sono in linea con quanto osservato da altri Autori in matrici alimentari diverse. Dalla disamina dei risultati si è stato osservato che il trattamento a 50°C per 10 minuti ha dato valori di inattivazione minori rispetto agli altri tempi e rispetto anche al trattamento a 40°C per lo stesso tempo. A spiegazione di tale fenomeno è stato ipotizzato che, a certe temperature, possa verificarsi un aumento della tensione di vapore che sopprime, attraverso un effetto ammortizzante, l'energia rilasciata quando la bolla cavitante, generata dalla sonicazione, implode, abbassandone così il tasso di inattivazione. Simili fenomeni sono, infatti, stati già osservati e sottolineati da altri Autori durante trattamenti di termosonicazione a

60°C. I risultati di questo studio indicano che il trattamento con ultrasuoni potrebbe migliorare l'inattivazione dell'agente patogeno a temperature sub-letali lasciando inalterate le caratteristiche organolettiche dei campioni trattati. Questo regime di trattamento potrebbe fornire, quindi, una soluzione per il settore alimentare dei prodotti Ready To Eat (RTE) per ottenere la riduzione/eliminazione dei batteri patogeni e la sicurezza alimentare che la normativa ci chiede. Gli effetti del trattamento di sonicazione o di termosonicazione andrebbero, tuttavia, ulteriormente approfonditi. Si dovrebbe, per esempio, valutare l'efficacia a basse temperature (2°-15°C) oppure il successivo periodo di conservazione e l'effetto che avrebbe sui batteri patogeni presenti nei campioni.

### C004

#### Livelli di distribuzione del mercurio totale in differenti parti e tipo di muscolo del tonno rosso (*Thunnus thynnus*): studio finalizzato alla stesura di una procedura di campionamento rappresentativo in esemplari interi di grandi partite

Pierluigi Piras<sup>1\*</sup>, Antonino Bella<sup>2</sup>, Maurizio Cossu<sup>3</sup>, Gianuario Fiori<sup>3</sup>, Andrea Sanna<sup>3</sup>, Giannina Chessa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ATS - D.P. Sud Sardegna (ambito ispettivo degli alimenti di origine animale), Carbonia; <sup>2</sup>Istituto Superiore di Sanità (ambito della metodologia epidemiologico-statistica), Roma; <sup>3</sup>ZS della Sardegna (ambito della chimica ambientale e della tossicologia), Sassari, Italia

Al XXVIII Convegno Nazionale AIVI è stato presentato un caso-studio sulla procedura di campionamento di muscolo di tonno rosso (*Thunnus thynnus*) finalizzato alla valutazione dei tenori rappresentativi del Mercurio totale (Hg) in una partita, assumendo, sulla scorta dei dati reperibili in bibliografia per altri Scombridi, che anche nella specie in studio la distribuzione del Hg non fosse uniforme per singola carcassa, oltre che tra gli esemplari costituenti la partita. A tale preliminare contributo per una corretta operatività nel campionamento rappresentativo per la ricerca del Hg nei tonni è correlato il presente studio, ponendosi lo scopo di sviluppare l'analisi sulla sua distribuzione in diverse parti muscolari, campionate da una sotto-partita composta da 15 esemplari (9 maschi e 6 femmine), ricavata dalle originarie partite di cattura n. 61 e 62, registrate con BCD (Bluefin tuna Catch Document) IT-18-900577, TD1 e TD2, della giornata di mattanza del 28/06/2018 presso la tonnara a rete fissa dell'impianto di Isola Piana, prospiciente la costa di Carloforte nella Sardegna sud-occidentale. Da ciascuno dei tonni sono state prelevate porzioni di muscolo di circa 100 g da 7 specifiche aree della carcassa, di cui una di muscolo scuro prospiciente la lisca e le restanti di muscolo bianco da tre punti lungo il filone superiore e da tre lungo quello inferiore, comprendente la ventresca. La determinazione analitica del Hg totale è stata effettuata mediante spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS). I risultati analitici dei complessivi 15 x 7=105 campioni hanno mostrato una distribuzione del Hg totale di tipo normale al test di Shapiro-Wilk, con varianze omogenee al test di omoschedasticità di Barlett e, quindi, si è potuti ricorrere alla statistica parametrica. La concentrazione media ponderata (ovvero, quotata per il peso relativo del sub-filone muscolare di estrazione del campione) è risultata di Hg(pond)=0,752±0,264 mg/kg. In riferimento ai livelli di distribuzione del Hg totale sono state trovate correlazioni statisticamente significative con il peso intero (p=0,0069) e con la lunghezza (p=0,0125) dei tonni. Non sono state invece rilevate differenze significative correlate al sesso

( $p=0,0679$ ) e allo stato nutrizionale ( $p=0,1128$ ), stimato col "Fattore (K) di Fulton", rilevatosi relativamente omogeneo con un rapporto medio di  $K=1,638\pm 0,096$ , come effetto verosimilmente legato alla sincronizzazione trofica di fase riproduttiva. Le concentrazioni medie più alte sono state riscontrate nel muscolo scuro isolato ( $Hg=0,960\pm 0,392$  mg/kg), con differenze statisticamente significative ( $p=0,0001$ ) rispetto alla riferita media ponderata. Nel muscolo bianco sono state inoltre riscontrate differenze significative nei tenori di Hg procedendo longitudinalmente per entrambi i filoni, ma più marcatamente ( $p\leq 0,0001$ ) in quello ventrale; come pure sono risultate significative ( $p=0,0004$ ) con riferimento ai campioni di muscolo prelevati nella sezione anteriore dei filoni (corrispondente alla "parte centrale del pesce") le differenze nei tenori di Hg tra il filone superiore ( $Hg=0,728\pm 0,299$  mg/kg) e quello inferiore ( $Hg=0,533\pm 0,210$  mg/kg) più grasso per la presenza della ventresca. I risultati ottenuti delineano complessivamente un quadro effettivamente capace di condizionare la rappresentatività di un campione "ufficiale", in particolare quando si tratti di variabilità intorno al valore soglia di accettabilità di 1,0 mg/kg.

### C005

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

Daniele Pattono<sup>1\*</sup>, Elisa D'Agui<sup>1</sup>, Marta Fidelio<sup>1</sup>, Bartolomeo Griglio<sup>2</sup>, Stefano Gili<sup>3</sup>, Tiziana Civera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Grugliasco (TO); <sup>2</sup>ASL TO5; <sup>3</sup>ASL TO1, Italia

Alcune specie di crostacei pongono problemi per le loro modalità di commercializzazione, in quanto la richiesta del mercato di un prodotto vivo, pone la necessità di rispettare il benessere in tutta la catena alimentare. Alcune modalità di detenzione, come l'esposizione su ghiaccio, vengono considerate lesive del benessere animale, imponendo quindi all'OSA di adottare misure specifiche basate su pareri e linee guida di associazioni tecnico-scientifiche come il National Aquaculture Council australiano o il Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale (C.RE.N.B.A) in Italia. La presente indagine si è posta l'obiettivo di valutare le pratiche correntemente in uso nell'attività di commercializzazione di crostacei vivi sul territorio piemontese. Sono quindi state visitate 23 diverse tipologie di attività (6 impianti per il commercio all'ingrosso, 12 realtà di vendita al dettaglio appartenenti al circuito della Grande Distribuzione, 1 pescheria ed 4 ristoranti). Durante le visite sono stati intervistati gli operatori con l'ausilio di checklist comprendenti informazioni sul prodotto quali: provenienza, tempi e modalità di stoccaggio, manutenzione degli acquari dove utilizzati, conoscenze degli operatori. Inoltre sono state condotte misurazioni fisiche (temperatura, ossigeno) e chimiche (nitrati e nitriti) delle acque delle vasche di detenzione ove presenti. Il quadro complessivo mostra una situazione variegata soprattutto per quanto concerne l'applicazione delle Good Handling Practices (GHP) e del benessere nella gestione degli animali, nonché nella conoscenza da parte degli OSA in materia di benessere animale. Dall'esame dei manuali HACCP è emerso che solo la metà di questi (48%) aveva una sezione dedicata a questi particolari prodotti ittici. In merito alla modalità di detenzione, lo stoccaggio in acquari è l'opzione più seguita e le loro condizioni mostrano un buono stato di manutenzione. Per quanto riguarda i parametri fisici e chimici nel complesso risultano soddisfacenti per il pH (87%), salinità (80%), nitrati (88%), mentre

per la temperatura la percentuale di situazioni favorevoli variava in maniera considerevole a seconda dei valori di riferimento indicati nelle diverse linee guida. L'immobilizzazione delle chele sembra essere l'unica opzione individuata per controllare l'aggressività e prevenire il cannibalismo; un approccio integrato comprendente illuminazione ridotta, progettazione di serbatoi con habitat complessi, temperatura è stato raramente riscontrato. La manipolazione di animali morti tiene conto del Principio di Precauzione destinandoli alla Cat. 3 nel 31% degli impianti ma alcuni operatori scelgono la vendita condizionata o il trattamento termico poiché studi hanno dimostrato la sicurezza di questi prodotti. Sui metodi di soppressione, la formazione degli OSA risulta carente: solo 1/3 degli intervistati sa indicare i metodi che attualmente vengono riconosciuti più idonei per questi animali. In conclusione, la situazione riflette i diversi livelli di conoscenza dell'OSA con la conseguenza di differenze nello stoccaggio e nella gestione. Talvolta gli OSA non sono sufficientemente formati e il veterinario del servizio di sanità pubblica può proporsi come punto di riferimento per la formazione specifica.

### C006

#### Applicazione della metagenomica *shotgun* a salmone affumicato inoculato sperimentalmente con batteri, virus e parassiti: confronto tra abbondanza delle sequenze e concentrazione delle cellule inoculate mediante quattro software di analisi bioinformatica

Alessandra De Cesare\*, Chiara Oliveri, Alex Lucchi, Frederique Pasquali, Gerardo Manfreda

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

Gli obiettivi di questo studio erano (1) valutare la possibilità di identificare e quantificare batteri, virus e parassiti inoculati sperimentalmente in salmone affumicato mediante metagenomica *shotgun*; (2) analizzare comparativamente i risultati ottenuti con quattro software bioinformatici diversi. Tre campioni di salmone affumicato sono stati inoculati con 108 cellule di *Propionibacterium freudenreichii* e *Staphylococcus aureus*; 107 cellule di *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*; 106 cellule di *Cryptosporidium parvum* e *Saccharomyces cerevisiae*; 106 genomi di bovine alphaherpesvirus 1. Il salmone inoculato è stato centrifugato per concentrare le cellule in un pellet sottoposto ad estrazione con PowerFood Microbial DNA isolation kit (Qiagen). Il DNA estratto è stato organizzato in librerie con NexteraXT (Illumina) e le librerie sono state sequenziate con NextSeq500 (Illumina) in paired end. Le sequenze sono state analizzate con MG-RAST, OneCodex, CosmosID e MgMapper e le analisi statistiche sono state eseguite con STAMP v 2.0.9. MG-RAST con il database RefSeq ha identificato tutti i batteri. *Propionibacterium freudenreichii* e *Staphylococcus aureus*, inoculati alle concentrazioni maggiori, sono risultate le specie più abbondanti mentre *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis* e *Salmonella enterica*, inoculati in concentrazioni equivalenti, hanno mostrato abundances diverse. *Saccharomyces cerevisiae* ha mostrato una abundance di 0,018%, *Cryptosporidium parvum* 0,150% mentre il virus non è stato identificato. Anche OneCodex ha identificato tutti i batteri, con *Propionibacterium freudenreichii* intorno al 60% rispetto all'8% di *Staphylococcus aureus*. Inoltre, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Bacteroides fragilis* sono risultati intorno al 7,5%, mentre *Fusobacterium nucleatum* al 2%. Tra le specie non batteriche One codex ha identificato

*Cryptosporidium parvum* con un'abundance di 0,08% e Alphaherpesvirus1 all'1,43%. CosmosID ha identificato *Propionibacterium freudenreichii* e *Staphylococcus aureus* come le specie più abbondanti e *Bacteroides fragilis* con abundance quasi doppia rispetto a *Salmonella enterica*. Infine, *Saccharomyces cerevisiae* non è stato identificato. Anche MGMapper ha identificato tutti i batteri ma *Staphylococcus aureus* è stato rilevato con abundance inferiore all'1%. *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Bacteroides fragilis* sono risultati intorno all'1% mentre *Fusobacterium nucleatum* intorno allo 0,1%. Infine, in relazione alle specie non batteriche, MGMapper ha identificato solo *Cryptosporidium parvum*. I risultati ottenuti hanno dimostrato che non c'è una correlazione diretta tra concentrazione di cellule di una specie e abundance delle reads per quella specie. Tuttavia, i batteri inoculati e *Cryptosporidium parvum* sono stati determinati dai software utilizzati mentre il bovine alphaherpesvirus 1 non è stato rilevato né da MG-RAST né da MG-Mapper. Infine, soltanto MG-RAST ha identificato *Saccharomyces cerevisiae*.

## C007

### Analisi comparativa del mitogenoma completo di alcune specie di sparidi e valutazione di un nuovo marker molecolare per *Pagellus erythrinus*

Marina Ceruso<sup>1\*</sup>, Celestina Mascolo<sup>1,2</sup>, Iolanda Venuti<sup>1</sup>,  
Giorgio Smaldone<sup>3</sup>, Rosa Luisa Ambrosio<sup>1</sup>, Paolo Sordino<sup>2</sup>,  
Tiziana Pepe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; <sup>2</sup>Dipartimento di Biologia ed Evoluzione degli Organismi Marini, Stazione Zoologica Antonio Dohrn, Napoli; <sup>3</sup>Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

Il Pagello fragolino (*Pagellus erythrinus*) è una delle specie di Sparidi più pescate e commercializzate nel Mar Mediterraneo e nell'Oceano Atlantico. Tale specie è molto apprezzata nei mercati Europei ed è spesso soggetta a frodi per sostituzione di specie. Le sostituzioni avvengono soprattutto mediante utilizzo di altri Sparidi con differente pregio commerciale. Le sequenze di DNA mitocondriale (mt) maggiormente utilizzate per l'identificazione di specie ittiche sono il citocromo b-CYTB, la citocromo c ossidasi I-COI, i geni che codificano per le subunità ribosomiali 16S e 12S. Ricerche recenti hanno dimostrato che lo studio dell'intero mtDNA consente di identificare nuovi marcatori molecolari specie-specifici e quindi più efficaci. In particolare, il gene NAD5 ha un'elevata capacità discriminatoria per le specie appartenenti alla famiglia Sparidae. Tuttavia, l'utilizzo di tutti questi markers molecolari richiede diversi steps analitici, come l'amplificazione del frammento target ed il sequenziamento. Quest'ultima fase rappresenta un momento critico dell'identificazione di specie, poiché richiede tempi lunghi. Inoltre, tale analisi deve essere effettuata in laboratori altamente specializzati, poiché la lettura errata di pochi nucleotidi può falsare la corretta identificazione della specie. Scopo di questo studio è stato quello di analizzare e confrontare l'intera sequenza di mtDNA di alcune specie di Sparidi al fine di identificare un marcatore molecolare utile per riconoscere la specie *P. erythrinus*, evitando la fase di sequenziamento. In questo studio sono stati confrontati i mitogenomi di n°13 Sparidi. L'allineamento degli mtDNA è stato condotto mediante l'utilizzo del software UGENE. L'algoritmo Hamming Distance è stato utilizzato per valutare la percentuale di disuguaglianza genetica tra le specie ed i geni. La p-genetic distance è stata valutata utilizzando il Maximum Composite Likelihood model.

La variabilità della sequenza nucleotidica è stata determinata allineando le sequenze gene-by-gene utilizzando MEGA 6.0. I primers sono stati disegnati a mano in seguito ad allineamento multiplo delle sequenze complete di mtDNA mediante il software BioEdit Sequence Alignment Editor. L'efficienza dei primers per l'identificazione di *P. erythrinus* è stata testata mediante PCR end-point. Sono stati testati n°10 campioni di *P. erythrinus* con differente provenienza geografica e n°30 campioni di filetti appartenenti ad altre specie ittiche. I risultati della Hamming Distance analysis, della valutazione della p-genetic distance e dell'analisi di variabilità della sequenza nucleotidica hanno consentito di identificare il gene NAD2 come potenziale marcatore molecolare per gli Sparidi. La reazione PCR ha confermato la capacità di discriminazione del gene NAD2. In particolare, l'amplificazione di un frammento selezionato del gene NAD2 è stata possibile solo per la specie *P. erythrinus*. Tale risultato può consentire di verificare la specie senza necessità di sequenziamento, riducendo tempi e costi delle analisi ed aumentando l'efficienza dei risultati. La valutazione di presenza/assenza della specie *P. erythrinus* può essere ottenuta in poche ore di lavoro di laboratorio. Ulteriori indagini sono in corso al fine di identificare primers specie-specifici anche per altre specie appartenenti alla famiglia degli Sparidi. In accordo con il Regolamento (UE) 1379/2013, questo studio contribuisce alla tracciabilità molecolare dei prodotti della pesca.



## Il Sessione

### C008

#### Influenza della stagionalità sulla presenza di *Dinophysis* spp. e accumulo di acido okadaico in molluschi bivalvi allevati in Sardegna (Italia)

Alessandro Graziano Mudadu\*, Anna Maria Bazzoni, Giuseppa Lorenzoni, Barbara Soro, Nadia Bardino, Igor Arras, Giovanna Sanna, Riccardo Bazzardi, Bruna Vodret, Sebastiano Virgilio

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Sassari, Italia

Lo scopo del lavoro, basato sui dati del quadriennio 2015-18, è stato quello di investigare l'interazione tra la presenza di *Dinophysis* species, la temperatura dell'acqua e la stagionalità nell'accumulo di tossine del gruppo dell'Acido okadaico in molluschi bivalvi vivi allevati in Sardegna. Le tossine appartenenti al gruppo dell'acido okadaico possono essere accumulate nei tessuti commestibili dei molluschi bivalvi rendendoli pericolosi per il consumatore, tali tossine sono responsabili della sindrome denominata *Diarrhetic Shellfish Poisoning* (DSP). Dal 2015 al 2018, sono stati analizzati un totale di 4432 campioni di acqua per la ricerca di fitoplancton potenzialmente tossico e 4595 campioni di molluschi bivalvi per la determinazione delle tossine liposolubili. La frequenza di campionamento è stata di norma quindicinale, settimanale nel periodo di riscontro di positività nei molluschi, in accordo con il "Piano Regionale di controllo ufficiale sulla produzione e commercializzazione dei molluschi bivalvi vivi" in vigore nella Regione Sardegna dal 1992. La ricerca di *Dinophysis* species è stata effettuata mediante il metodo di Utermöhl in accordo con la UNI EN 15204:2006, mentre la determinazione delle tossine del gruppo dell'acido okadaico è stata eseguita mediante cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS/MS), metodo AESAN 2015. Dal 2015 al 2018 sono stati analizzati un totale di 4432 campioni di acqua per la determinazione di fitoplancton potenzialmente tossico e 4595 campioni di molluschi bivalvi vivi per la determinazione delle tossine liposolubili. I campioni riscontrati non conformi (al di sopra del limite di legge di 160 µg AO eq/Kg p. e., stabilito dal Reg. CE n. 853/2004) sono stati 60 (2,7%). Il maggior numero di positivi per acido okadaico è stato riscontrato nel biennio 2015-2016, con 23 casi per anno, mentre sono stati rilevati 4 casi nel 2017 e 10 nel 2018. Ogni evento è stato preceduto dalla presenza di specie appartenenti al genere *Dinophysis*, principalmente *D. acuminata* Claparède & Lachmann e *D. sacculus* Stein. Le positività per acido okadaico sono state riscontrate in 10 aree di produzione, in 6 di queste nei mesi di Gennaio, Febbraio e Marzo, con una temperatura media dell'acqua di 13°C, in 4 aree invece le positività sono state registrate tra Aprile ed Agosto, con una temperatura media dell'acqua di 23°C. Complessivamente le positività sono state riscontrate nelle stagioni invernali, primaverili ed estive ed in un range di temperature comprese tra gli 8 e i 26°C. La primavera e l'inizio dell'estate sono segnalati in letteratura come i periodi più pericolosi per gli eventi tossici. In Sardegna l'analisi dei molluschi ha mostrato la presenza di acido okadaico anche nella stagione invernale. I risultati dimostrano che in determinate zone acquatiche della Sardegna le condizioni climatiche sono favorevoli alla crescita di *Dinophysis* species anche nei periodi invernali, e il fenomeno si è ripetuto nel corso degli anni. Tuttavia in altre zone della Sardegna l'accumulo si è avuto, come da letteratura, nel periodo primavera-estate. Ne consegue che l'interazione tra presenza di microalghe tossiche e l'ac-

cumulo di tossine nei molluschi bivalvi è estremamente variabile e dipendente oltre che dalla temperatura dell'acqua anche dalle caratteristiche peculiari di ogni singola area geografica studiata.

### C009

#### Studio retrospettivo sui controlli microbiologici nei molluschi bivalvi provenienti dall'area dei Laghi di Torre Faro e di Ganzirri di Messina, periodo 2015-2018

Michele Fiasconaro<sup>1\*</sup>, Maria Vitale<sup>1</sup>, Giovanna Carbone<sup>1</sup>, Mary Zanghi<sup>1</sup>, Flavia Pruiti<sup>1</sup>, Dorotea Ippolito<sup>1</sup>, Santi La Macchia<sup>2</sup>, Vincenzo Di Marco Lo Presti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico della Sicilia, Palermo; <sup>2</sup>Asp di Messina, Italia

Scopo di questo studio è fornire un contributo alla conoscenza delle attività di commercio dei molluschi bivalvi nell'area dei laghi di Ganzirri e Torre Faro di Messina e di fornire informazioni utili sui controlli ufficiali che vengono eseguiti da parte delle autorità competenti quali A.S.P. di Messina e I.Z.S. Sicilia. Nel periodo 2015-2018 sono stati esaminati 304 campioni ufficiali di mitili provenienti dai 5 Centri di Spedizione Molluschi(CSM) operanti nella zona e 64 di vongole autoctone provenienti dal lago di Ganzirri. I CSM ricevono i mitili da centri di produzione del nord Italia e dopo una rifinitura da alcuni giorni a due mesi nelle acque del lago Faro vengono immessi in commercio. Sono stati esaminati 237 campioni di mitili per *E. Coli*, 236 per *salmonella*, 23 per *Vibrio*, 20 per metalli pesanti, 5 per epatite A e *norovirus* e 48 campioni di vongole autoctone per *E. Coli* e *Salmonella*, 13 per biotossine algali, 2 per metalli pesanti e 1 per Epatite A e *Norovirus*. Gli esami sono stati eseguiti con prove accreditate in uso presso l'I.Z.S della Sicilia. I dati ottenuti sono stati oggetto di uno studio retrospettivo per il quale ci si è serviti di Win Episcopo. Tutti i campioni di cozze sono risultati negativi per *Salmonella*, *Vibrio*, biotossine algali, metalli e virus. Dei 237 campioni esaminati per *E. coli*, 34 sono risultati non conformi ai sensi del Reg. 2073/05 e del Reg. (Ue) 2015/2285 della Commissione dell'8 dicembre 2015. In particolare sono stati analizzati i dati relativi ai campioni di cui si conosceva il periodo di permanenza nel lago, dall'arrivo al CSM al prelievo (215 campioni). Si è osservato che dei 59 campioni con un periodo di rifinitura nel lago superiore a 21 gg. solo 1 (1,69%) è risultato non conforme, mentre dei 156 campioni con rifinitura inferiore ai 21 gg, 32 (20,51%) sono risultati non conformi. Ai fini di questo studio la durata del periodo di rifinitura inferiore ai 21 gg è stata considerata un fattore di rischio. Per cui i primi sono stati considerati non esposti al fattore di rischio (FDR), mentre i secondi esposti. Dei 48 campioni di vongole 1(2%) è risultato positivo per *Salmonella* mentre 32(66%) sono risultati non conformi per *E. Coli*. Tutti i campioni di vongole esaminati sono risultati conformi per biotossine e metalli pesanti. Un campione esaminato per la ricerca di virus è risultato positivo per *Norovirus*. In conclusione, l'aspetto più importante che è emerso da questo studio retrospettivo è che il rapporto tra le proporzioni è  $20.51/1.69=12.1$ . Cioè, la probabilità che un campione esposto al FDR possa risultare non conforme è 12 volte superiore rispetto alla probabilità che un campione non esposto possa risultare non conforme. Abbiamo anche effettuato il calcolo della Odds ratio (OR) che è risultata uguale a 14.9677 con un IC al 95% e con un p-value=0.0085<di 0.05. Ciò significa che esiste una forte correlazione tra la permanenza nel CSM per un periodo <di 21 giorni e la possibilità di avere risultati non conformi. Al contrario la permanenza nel lago per un periodo >di 21 giorni rappresenterebbe un fattore protettivo. Per ciò che riguarda i campionamenti di vongole,



questi erano finalizzati a poter classificare il Lago di Ganzirri di classe A ai fini dello sfruttamento delle vongole autoctone per il consumo diretto, tenuto conto che attualmente è di classe C. Tuttavia i risultati ottenuti a partire dal 2016 fino ad ora, escludono nella maniera più categorica questa possibilità.

## C010

### Analisi del sanitary survey 2015-2017 condotto nel golfo della Spezia: riclassificazione delle zone di produzione di molluschi bivalvi vivi

Erica Costa<sup>1\*</sup>, Alice Giusti<sup>2</sup>, Alice Traina<sup>2</sup>, Daniele Nucera<sup>3</sup>, Patrizia Serratore<sup>4</sup>, Mino Orlandi<sup>1</sup>, Andrea Armani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sistema Sanitario Regione Liguria, Azienda Sociosanitaria Ligure 5, Struttura Complessa Igiene degli Alimenti di Origine Animale, La Spezia; <sup>2</sup>FishLab, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università di Torino, Grugliasco (TO); <sup>4</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Cesenatico (FC), Italia

La normativa comunitaria prevede che i molluschi bivalvi vivi (MBV) vengano allevati o raccolti solo in zone di produzione classificate dall'Autorità Competente (AC) come A, B o C in relazione al livello di contaminazione fecale, utilizzando *E. coli* come indicatore. Per classificare le zone di produzione l'AC effettua una valutazione preliminare delle fonti inquinanti e programma un piano di campionamento almeno semestrale rappresentativo della zona considerata. Oltre alla valutazione di parametri biologici, chimici e fisici cogenti, l'AC può valutare parametri aggiuntivi per una completa sorveglianza sanitaria. Le zone classificate sono costantemente sottoposte a monitoraggio e sorveglianza al fine di prevenire e gestire gli eventuali rischi per il consumatore. Almeno ogni tre anni l'AC elabora un "sanitary survey" sulla base delle Linee Guida del "Centro per le scienze dell'ambiente, della pesca e dell'acquacoltura" (CEFAS) per la riclassificazione delle zone. Il primo report relativo alle zone di produzione del golfo della Spezia è stato effettuato per il triennio 2012-2014 ed il secondo per il 2015-2017. Questo studio è volto ad analizzare i dati provenienti dal "Sanitary survey 2018" (triennio 2015-2017). Sono stati estrapolati dati relativi a numero e tipologia di analisi effettuate sulle specie *Mytilus galloprovincialis*, *Crassostrea gigas* e *Venus verrucosa* nei punti di campionamento previsti dal piano di monitoraggio. Successivamente è stato valutato numero e tipologia di non conformità (NC) riscontrate sulla base di parametri cogenti e parametri aggiuntivi di sorveglianza sanitaria. Questi dati sono stati poi confrontati con quelli del report 2015 (triennio 2012-2014). Opportuni test statistici sono stati utilizzati per valutare i dati provenienti dal monitoraggio di *Norovirus* in funzione del luogo di campionamento e, nel caso di *E. coli*, anche in funzione dei dati pluviometrici e della stagionalità. Sono state effettuate 4306 analisi, soprattutto su *M. galloprovincialis* (89%) e per lo più per agenti biologici e biotossine marine. Sono state rilevate 160 NC, la maggior parte delle quali (93.7%) riferibili a positività per *Norovirus* in *M. galloprovincialis* e *C. gigas*, con una forte prevalenza del genogruppo GII. La prevalenza di *Norovirus* nel golfo della Spezia è risultata essere più alta rispetto alla media nazionale, mentre lo stato sanitario delle zone di produzione in relazione alla presenza di biotossine marine è migliore in confronto alle altre realtà produttive nazionali. L'analisi statistica ha evidenziato che i livelli di *E. coli* sono correlati sia con la piovosità che con la stagionalità (maggiori nel periodo più freddo). In entrambi i casi sono principalmente coinvolti i punti di campionamento interni alla Diga

e della Baia di Portovenere probabilmente a causa alla direzione delle correnti marine e del loro rallentamento nei suddetti punti. Rispetto al triennio precedente, è stata riconfermata la classe B per *M. galloprovincialis*, le zone di produzione di *C. gigas* sono state invece riclassificate A e quelle di *V. verrucosa* sono state definitivamente chiuse per le difficoltà riscontrate nel reperimento di un numero di campioni rappresentativo. Il sanitary survey si è dimostrato uno strumento utile per la valutazione periodica dello status sanitario delle aree di molluschicoltura, consentendone il monitoraggio nel tempo e fornendo un valido supporto per il controllo ufficiale.

## C011

### Fioriture algali di *Alexandrium* spp. in impianti di miticoltura ed eventi di tossicità da PSP (*Paralytic Shellfish Poisoning*) in molluschi bivalvi allevati in Sicilia

Antonella Costa<sup>1\*</sup>, Vincenzina Alio<sup>1</sup>, Sonia Sciortino<sup>1</sup>, Luisa Nicastro<sup>1</sup>, Monica Cangini<sup>2</sup>, Fiorella Pino<sup>2</sup>, Irene Servadei<sup>2</sup>, Sonia Dall'Ara<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo; <sup>2</sup>Fondazione Centro Ricerche Marine, LNR per le Biotossine Marine, Cesenatico (FC), Italia

È noto che i molluschi bivalvi filtratori, soprattutto i mitili, possono concentrare pericolose tossine, prodotte da varie specie microalgali: la presenza di tossine algali, oltre i limiti di legge, ne comporta il divieto di raccolta e di commercializzazione, ai fini della tutela della salute pubblica. In particolare le tossine PSP (*Paralytic Shellfish Poisoning*), responsabili di sindromi neurotossiche e rappresentate dalla saxitossina e dai suoi analoghi, sono prodotte da dinoflagellati appartenenti al genere *Alexandrium* Halim, la cui presenza è nota anche nei mari italiani. In Sicilia, dinoflagellati produttori di PSP sono stati riscontrati già da una decina d'anni anche nelle acque di impianti di miticoltura del Mar Ionio, classificate come acque di "zona B". Nel 2007 era stata già rilevata la presenza di tossine PSP nei mitili al di sopra dei limiti previsti (>800 µg STXeq kg<sup>-1</sup> p.e.) e nel contempo la presenza di *A. minutum* Halim, 1960 nelle acque. Fioriture ricorrenti di *A. minutum*, sono osservate annualmente in questa area marina, in particolare nel periodo primaverile. Nel presente lavoro è riportato un recente evento di tossicità da PSP verificatosi nella stessa area di produzione, con conseguente chiusura temporanea dell'allevamento e sospensione cautelativa della raccolta. La ricerca del fitoplancton potenzialmente tossico e delle biotossine algali è stata condotta da gennaio a maggio in campioni rispettivamente di acqua marina e di mitili, in più punti, nell'ambito di un Piano di monitoraggio delle aree classificate. Per l'analisi quantitativa del fitoplancton è stata utilizzata la metodica di Utermöhl (BS EN 15204:2006); per la ricerca delle tossine PSP nei mitili è stata impiegata la metodica che prevede il saggio biologico (AOAC 959.08). I campioni positivi alla prova biologica, della cui presenza è stata data immediata comunicazione alla ASP di competenza, sono stati inviati al LNR per le biotossine marine di Cesenatico, per la determinazione quantitativa mediante metodo ufficiale AOAC 2005.06. Il campione più concentrato, prelevato alla fine di gennaio, è risultato contenere 8.139 µgSTXdiHCleq/kg p.e.; i valori di PSP sono risultati superiori al limite normativo, con positività al metodo biologico, fino ai primi di marzo. Il profilo tossico ha rilevato la presenza di gonyautossine (GTX1,4 in prevalenza, GTX2,3), di tossine del gruppo C (C1,2, C3,4) e in minore concentrazione di GTX5 e di saxitossine (STX, neoSTX). L'analisi del fitoplancton ha evidenziato la presenza di *A. minutum* con valori da 1.0x10<sup>2</sup> a 5.4x10<sup>3</sup> cellule/litro.

Prelievi di acque marine, effettuate in anni precedenti, avevano permesso di evidenziare sia la specie *A. minutum*, già nota nella comunità fitoplanctonica della zona, che la nuova specie tossica *A. pacificum* Litaker, 2014 (in passato identificata come *A. catenella* (Whedon & Kof.) Balech, 1985), con fioriture algali di *Alexandrium* spp. con densità cellulari superiori a 10<sup>6</sup> cellule/litro. Da evidenziare che le positività per PSP da noi riscontrate nei mitili negli ultimi anni, con il metodo biologico, confermate dal metodo chimico di riferimento, si sono verificate nel periodo tardo inverno-inizio primavera. E' fondamentale pertanto una continua attività di controllo e di monitoraggio di zone marine a rischio di fioriture algali potenzialmente tossiche, nonché una stretta collaborazione tra le parti interessate, al fine di un'efficace prevenzione a tutela della salute dei consumatori.

## C012

### Messa a punto di metodi per la concentrazione di *Norovirus* GI e GII e virus dell'epatite A in diverse matrici idriche e loro rilevazione mediante *real-time* PCR

Giuseppe Aprea<sup>1</sup>, Daniela D'Angelantonio<sup>1\*</sup>, Serena Iachini<sup>2</sup>, Miriam Berti<sup>1</sup>, Silvia Scattolini<sup>1</sup>, Arianna Boni<sup>1</sup>, Francesco Pomilio<sup>1</sup>, Giacomo Migliorati<sup>1</sup>, Nicola Ferri<sup>1</sup>, Luciana Giovannetti<sup>2</sup>, Nicola D'Alterio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" Teramo; <sup>2</sup>Università degli Studi di Firenze, Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali, Firenze, Italia

I virus enterici umani sono tra i principali patogeni che causano gastroenterite acuta. Sono molto contagiosi a causa della loro bassa dose infettante, dell'alto livello di eliminazione dopo l'infezione e della loro resistenza ambientale. L'acqua contaminata rappresenta una delle vie più importanti per la trasmissione virale attraverso l'irrigazione di vegetali coltivati per uso umano, gli allevamenti di molluschi in acque marine e le attività ricreative in acqua. Secondo le stime dell'*European Food Safety Authority* (EFSA) e dell'*European Center for Disease and Control*, gli agenti virali a trasmissione alimentare sono tra le principali cause di infezione in UE, con 398 focolai e 8.520 casi umani nel 2017. Tra i virus, i Calicivirus (inclusi i *Norovirus*) costituiscono il gruppo più consistente, con 211 focolai e 6.550 casi umani. Ad oggi, nonostante i progressi nel campo della diagnostica virologica, ancora non è stato individuato un metodo capace di combinare efficacia di concentrazione virale nelle acque ambientali, velocità di esecuzione e basso costo dei test. Lo scopo del presente lavoro è stato lo sviluppo di un protocollo efficace per la concentrazione e successiva determinazione qualitativa di genomi di virus a trasmissione alimentare in differenti matrici idriche, quali acqua di sorgente, acqua post-depurazione ed acqua di transizione. Nello specifico, si è scelto di utilizzare come target d'analisi *Norovirus* genogruppo I (NoVGI), *Norovirus* genogruppo GII (NoVGII) e virus dell'Epatite A (HAV), considerando il loro impatto sulla salute pubblica. Le differenti tipologie di acqua sono state sottoposte a concentrazione virale sia mediante la flocculazione chimica che la procedura ISO 15216-2 2013, metodo ufficiale attualmente disponibile per la rilevazione di virus in alcune matrici alimentari, tra cui le acque alimentari in bottiglia. In particolare, la prima metodica ha previsto la produzione di flocculi utilizzando cloruro di ferro esaidrato con successivo recupero e dissoluzione dei flocculi stessi in una soluzione contenente l'acido ossalico; la seconda, invece, ha previsto la filtrazione dei campioni mediante filtri

da 0.45 micron carichi positivamente. Per l'acqua post-depurazione e per quella di transizione, si è reso necessario modificare il protocollo della procedura ufficiale, incrementando il numero di centrifugazioni ed inserendo una fase di trattamento con soluzione cloroformio-butanolo (1:1), per consentire una superiore eliminazione delle sostanze inibenti. Le successive fasi di estrazione del materiale genomico e la sua rilevazione attraverso real time RT-PCR sono state condotte, per tutte le matrici idriche, secondo ISO 15216-2 2013. La metodica ISO 15216-2 2013 (per acqua di sorgente) e sue modifiche (per acqua post-depurazione e di transizione) è risultata la migliore in termini di efficienza di amplificazione e di estrazione del virus. Questo studio rappresenta una fase preliminare di ricerca, la quale necessita di ulteriori sperimentazioni allo scopo di produrre un metodo unico e validabile per il monitoraggio delle acque ambientali da contaminazioni virali.

## C013

### Piattaforma italiana per la segnalazione dei rischi emergenti

Paolo Daminelli<sup>1\*</sup>, Stefano Pongolini<sup>1</sup>, Silvia Todeschi<sup>1</sup>, Giorgio Varisco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, Centro di Referenza Rischi Emergenti in sicurezza alimentare, Milano, Italia

L'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) ha definito il rischio emergente quale: "Rischio derivante da un pericolo di nuova individuazione al quale può aversi una significativa esposizione o che deriva da una nuova e inaspettata o maggiore esposizione e/o sensibilità a un pericolo già noto". Ne consegue che l'individuazione tempestiva di tali rischi potenziali è un momento fondamentale nel processo dell'analisi del rischio a tutela della salute pubblica consentendo l'adozione di misure adeguate e tempestive di prevenzione a tutela dei consumatori e contribuire, inoltre, a migliorare l'attività di EFSA nel settore per affrontare le sfide future in materia di valutazione del rischio. A tale riguardo il Centro di Referenza Nazionale per i Rischi Emergenti in Sicurezza Alimentare (CRESA), individuato presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna (IZSLER), in collaborazione con il Ministero della Salute-DGOCTS ha sviluppato una piattaforma digitale, allocata nell'area riservata del sito Ars-Alimentaria, attraverso la quale è possibile segnalare al CRESA problematiche di sicurezza alimentare e di sanità animale ritenute un possibile rischio emergente. Attraverso un percorso di formazione svolto dal CRESA in collaborazione con il Ministero della Salute, è stato possibile nel corso del 2019 organizzare workshop di presentazione della piattaforma finalizzati a: - contribuire alla definizione della platea dei segnalatori dei potenziali rischi emergenti e del sistema di valutatori delle segnalazioni; - contribuire a identificare le modalità operative per la gestione delle segnalazioni e delle loro valutazioni. La piattaforma, accessibile dalla home page del sito [www.ars-alimentaria.it](http://www.ars-alimentaria.it) attraverso la profilazione degli utenti autorizzati, consente la raccolta, validazione e gestione delle segnalazioni di possibili rischi emergenti, catalogandoli all'interno di diversi settori: malattie animali, pericoli biologici, pericoli chimici di tipo residuale, pericoli chimici naturali e contaminanti ambientali, abitudini alimentari. I potenziali rischi emergenti segnalati sono a disposizione del Ministero della Salute per azioni conseguenti nel contesto del sistema nazionale di valutazione del rischio.

## C014

**I provvedimenti in caso di non conformità alla normativa in materia di sicurezza alimentare: valutazioni tecniche e giurisprudenza**

Alfredo Rossi<sup>1\*</sup>, Giovanni Rossi<sup>2</sup>, Alfonso Rosamilia<sup>3</sup>,  
Massimo Renato Micheli<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ASL di Benevento; <sup>2</sup>AUSL di Parma; <sup>3</sup>AUSL di Modena, Italia

L'attività di controllo ufficiale in materia di sicurezza alimentare è disciplinata attualmente dal regolamento CE n. 882/2004, che dal 14 dicembre 2019 sarà sostituito da regolamento UE n. 625/2017 che ne amplia il campo di applicazione. La norma disciplina, infatti, i controlli intesi a verificare la conformità alla normativa dell'Unione e dei Paesi membri, in modo da garantire l'applicazione della legislazione nella filiera agroalimentare: alimenti, mangimi, salute e benessere degli animali, sanità delle piante e prodotti fitosanitari. I provvedimenti amministrativi che le Autorità competenti adottano a seguito del riscontro di una non conformità in materia di igiene degli alimenti, debbono tener conto oltre che della valutazione del rischio, anche di una serie di criteri dettati sia dalla normativa comunitaria che nazionale e devono essere informati ai principi generali che regolano l'azione amministrativa. Lo scopo del presente studio è quello di condurre una analisi giuridica delle disposizioni dettate dal regolamento n. 625/2018 in materia di azioni esecutive a seguito di non conformità, nonché dei criteri da adottarsi per la corretta impostazione degli atti provvedimenti. Lo studio è stato completato con un'analisi della casistica giurisprudenziale di questi ultimi anni sulla materia, che in molti casi ha censurato l'operato delle Autorità competenti locali e ha portato in evidenza una applicazione distorta e disomogenea della normativa in materia di sicurezza alimentare, specie nei casi in cui vengono adottate misure drastiche, quali la chiusura dell'attività, che vanno ad incidere pesantemente sulle imprese del settore alimentare interessate. Oltre ad una erronea applicazione della normativa speciale sanitaria, si evidenzia anche la violazione del principio di proporzionalità di matrice comunitaria; principio che ha di recente assunto rilevanza anche nel settore della sicurezza alimentare: sia come criterio guida dell'adozione dei provvedimenti amministrativi da parte degli operatori sanitari dell'Autorità competente, che come essenziale parametro per il sindacato giurisdizionale da parte dei nostri giudici amministrativi.

**I Sessione**

## C015

**Effetto del processo produttivo e del trattamento ad alte pressioni sulla contaminazione da *Salmonella* spp. nella coppa**

Roberta Taddei<sup>1</sup>, Federica Giacometti<sup>3\*</sup>, Lia Bardasi<sup>1</sup>,  
Paolo Bonilauri<sup>2</sup>, Mattia Ramini<sup>1</sup>, Maria Cristina Fontana<sup>1</sup>,  
Patrizia Bassi<sup>1</sup>, Sara Castagnini<sup>1</sup>, Francesco Ceredi<sup>1</sup>,  
Maria Francesca Pelliconi<sup>1</sup>, Andrea Serraino<sup>3</sup>, Silvia Piva<sup>3</sup>,  
Elisabetta Mondo<sup>3</sup>, Giuseppe Merialdi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sede Territoriale di Bologna, Bologna; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sede Territoriale di Reggio Emilia, Reggio nell'Emilia; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Ozzano dell'Emilia (BO), Italia

Lo scopo dello studio è di valutare l'effetto combinato del processo di produzione della coppa seguito da un trattamento ad alte pressioni (HPP) sul livello di contaminazione da *Salmonella* spp. in coppe contaminate artificialmente. Lo studio ha l'obiettivo di verificare il raggiungimento di una riduzione di 5 log di *Salmonella* spp. necessario per l'esportazione negli Stati Uniti. I tagli anatomici sono stati contaminati con un mix di *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* monofasica e *S. Derby* e hanno subito il processo di produzione applicato in 4 aziende. Successivamente le coppe sono state sottoposte a un trattamento con HPP a 593 MPa per 290 secondi. Le coppe sono state campionate sia in superficie che in profondità durante e alla fine del processo produttivo e dopo il trattamento con HPP e analizzate per determinare la conta di *Salmonella* spp., pH a aw. I risultati dello studio dimostrano un calo significativo della contaminazione da *Salmonella* spp. sia nel corso del processo produttivo che a seguito del trattamento HPP: in dettaglio la riduzione della contaminazione superficiale è risultata compresa tra 1.58 e 5.04 log CFU/g durante il processo produttivo e il trattamento con HPP ha determinato una ulteriore riduzione di 0.61-4.01 log in superficie e di 1.49-4.13 log in profondità. I risultati dello studio dimostrano che la riduzione di contaminazione dovuta al processo produttivo, associata a un trattamento con HPP, ha permesso in tutti i test il raggiungimento dell'obiettivo di una riduzione di 5 log di *Salmonella* spp. come richiesto dalle linee guida USDA/FSIS per l'esportazione negli Stati Uniti.

## C016

**Potenziale di crescita di *Listeria monocytogenes* in campioni di lingua in salsa verde confezionata in atmosfera modificata**

Erica Tirloni<sup>1,2\*</sup>, Francesco Pomilio<sup>3</sup>, Vanessa Di Pietro<sup>4</sup>,  
Mauro Vasconi<sup>1</sup>, Cristian Bernardi<sup>1</sup>, Simone Stella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare (VESPA), Università degli Studi di Milano; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Umane e Promozione della Qualità della Vita, Università San Raffaele, Roma; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo; <sup>4</sup>Freelance, Italia

Obiettivo di questo studio è stata la valutazione del potenziale di crescita di ceppi di *Listeria monocytogenes* inoculati in un prodotto

di gastronomia pronto al consumo ovvero la lingua in salsa verde. Il prodotto è confezionato in atmosfera modificata (30% CO<sub>2</sub>/70% N<sub>2</sub>) con una *shelf-life* assegnata di 15 giorni. Il protocollo è stato messo a punto seguendo le linee guida del laboratorio di riferimento Europeo per *Listeria monocytogenes*. Poiché il prodotto testato è costituito da numerosi ingredienti, è stata prevista una certa variabilità legata alle materie prime e alla tipologia di processo produttivo, perciò la prova è stata svolta su tre lotti. Per l'inoculo, sono stati selezionati 3 ceppi di *Listeria monocytogenes* isolati da substrato carneo e resistenti a condizioni di pH acido e di bassa attività dell'acqua. Il prodotto inoculato è stato mantenuto a 12°C per 20 giorni, durante i quali è stata valutata l'evoluzione della carica del patogeno, mentre su campioni di controllo sono stati valutati il pH, l'Aw e lo sviluppo della microflora. È stato quindi calcolato il potenziale di crescita di *L. monocytogenes*. I valori rilevati nel corso della prova effettuata su tre diversi lotti di prodotto indicano l'assenza di uno sviluppo significativo di *L. monocytogenes* nel prodotto nel corso della vita commerciale, anche in presenza di abuso termico. Considerando, in accordo con le linee guida, il lotto meno favorevole, si ottiene infatti un aumento di 0,06 Log ufc/g. Nel corso della conservazione si è osservata una costante diminuzione del pH del prodotto, raggiungendo anche valori inferiori a 5,0. Tale acidificazione è probabilmente legata al metabolismo dei batteri lattici presenti. I valori di Aw rilevati risultano compresi nel range 0,95-0,97, costantemente superiori alla soglia considerata inibente per *L. monocytogenes* a norma del Regolamento 2073/2005 (0,92), e non rappresentano quindi un fattore di sicura protezione. Anche considerando la combinazione di pH e Aw, il prodotto analizzato non rientra nelle soglie che impediscono lo sviluppo di *L. monocytogenes* (pH ≤5,0 e Aw ≤0,94). L'analisi delle cariche microbiche ha mostrato una conta batterica totale (esclusi i batteri lattici) inizialmente compresa fra 5 e 6 Log ufc/g; tali valori sono da considerarsi nella norma, data la tipologia di prodotto che comprende ingredienti vegetali (nella salsa) e che subisce una lavorazione abbastanza complessa. Nel corso della shelf life le cariche non si sono modificate in modo evidente. I batteri lattici rappresentavano la flora microbica predominante nel prodotto raggiungendo valori molto elevati (7-8 Log ufc/g) sin da subito, che sono stati poi mantenuti per il resto della prova. L'effetto inibente nei confronti di *L. monocytogenes* è quindi certamente legato ad una concomitanza di fattori quali il pH e l'Aw in combinazione con la carica di batteri lattici e il confezionamento in atmosfera protettiva. In conclusione, il prodotto testato può essere classificato, a norma del Reg. CE 2073/2005, Allegato I, nella categoria 1.3 - "Alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali".

## C017

### Valutazione dell'effetto antimicrobico di *Cannabis sativa* su batteri patogeni di interesse zoonosico e su batteri indicativi di igiene di processo in carne macinata conservata a temperature di refrigerazione

Frederique Pasquali\*, Marco Schinzari, Alex Lucchi, Alessandra De Cesare, Gerardo Manfreda

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

Scopo: In un continuo impegno volto alla riduzione dell'utilizzo di additivi alimentari con possibili ricadute negative sulla salute umana, la comunità scientifica è sempre più coinvolta nella ricerca

di additivi naturali alternativi a quelli tradizionali. In questo ambito l'utilizzo di fitobiotici con proprietà antimicrobiche risulta promettente per il miglioramento della qualità e l'estensione della *shelf-life* dei prodotti alimentari. Nel presente studio l'effetto antimicrobico di un estratto di *Cannabis sativa* è stato valutato sia *in vitro* contro batteri patogeni di interesse zoonosico (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria monocytogenes*) che direttamente nell'alimento su gruppi batterici indicativi dell'igiene di processo in carne macinata conservata 8 giorni a temperatura di refrigerazione. Metodi: L'infiorescenza, privata dei semi, ed una minima parte fogliare di *Cannabis sativa* varietà futura 75 è stata sottoposta ad un processo di grindatura e setacciamento artigianale. Dal trinciato, si è proceduto ad estrazione con etanolo secondo un protocollo precedentemente pubblicato. Per evitare un possibile effetto antimicrobico dell'etanolo, alla fine del processo di estrazione, tale solvente è stato eliminato mediante evaporazione e sostituito con acqua. Concentrazioni scalari di estratto, trinciato e cannabidiolo in purezza sono state aggiunte a Nutrient agar sul quale sono stati inoculati 5µl di sospensioni batteriche di 0,5 x 10<sup>8</sup> CFU/ml rispettivamente di due ceppi di *Listeria monocytogenes* (4698, 4749), due ceppi di *Salmonella Typhimurium* (208, 63), due ceppi di *Escherichia coli* (ATCC25922 e 135) ed un ceppo di *Staphylococcus* spp. (S661). Le piastre sono state incubate a 37°C per 24 ore. Nella prova sull'alimento, 50 ml di estratto sono stati aggiunti a 2,5 kg di carne macinata di bovino adulto in seguito porzionata in aliquote da 80 g stoccate a 4°C per 8 giorni. A 0, 1, 2, 3, 4, 7, e 8 giorni, si è proceduto alla conta dei mesofili totali, enterobatteri e coliformi secondo protocolli standard su tre aliquote addizionate e tre aliquote non addizionate con estratto. Risultati: Tutti i composti testati sono risultati efficaci nell'inibizione della crescita batterica dei Gram+ ed inefficaci contro i Gram-. In particolare una concentrazione di estratto di 0,28 mg/ml è risultata efficace contro *Listeria monocytogenes* mentre 2,3 mg/ml di estratto sono risultati necessari per l'inibizione di *Staphylococcus* spp. Per quanto riguarda la carne macinata, dopo 8 giorni di conservazione a 4°C il campione addizionato con estratto risultava visivamente di colore rosso vivo in confronto ad un colore più scuro del campione di controllo. A 8 giorni di conservazione, la conta di enterobatteri e coliformi è risultata significativamente ridotta rispettivamente di 2,5 log CFU/g e 2,0 log CFU/g nella carne con estratto rispetto al controllo. Per quanto riguarda i mesofili totali, pur essendo simili le conte dei trattati rispetto ai controlli a 8 giorni, l'estratto sembra aver rallentato la crescita dei mesofili che a 4 giorni si sono attestati intorno a 107 CFU/g nei trattati, mentre hanno già superato i 108 CFU/g nei controlli. Conclusioni: Se pur preliminare, il presente studio evidenzia un chiaro effetto antimicrobico dell'estratto di *Cannabis sativa* su *L. monocytogenes* e *Staphylococcus* spp. così come sulle popolazioni microbiche indicatori di igiene di processo e naturalmente presenti nella carne macinata.

## C018

### Produzione di insaccati crudi stagionati mediante aggiunta diretta di nitrati di origine vegetale

Luca Pennisi\*, Enrica Verrocchi, Domenico Paludi, Alberto Vergara

Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Teramo, Italia

L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di utilizzare polveri vegetali, come fonte di nitrati, in insaccati crudi stagionati e la valutazione dell'effetto di queste sulle caratteristiche igienico-sanitarie, sulla qualità organolettica e l'accettabilità di tali prodotti mediante un



consumer test. Per la produzione dei vegetali in polvere, sedano e spinaci freschi, sono stati sottoposti ad un processo di essiccamento in stufa. Per la produzione dei salumi sono stati lavorati 150 Kg di impasto per la preparazione di cinque differenti lotti così suddivisi: Gruppo negativo (GN) prodotto secondo la tradizionale ricetta (carne, grasso, sale e pepe); Gruppo Controllo (GC), prodotto secondo la tradizionale ricetta con aggiunta di nitrati; Gruppo con nitrati da sedano in polvere (GSe); Gruppo con nitrati da sedano e barbabietola in polvere (GSeB); Gruppo con nitrati da spinaci e barbabietola in polvere (GSpB). Sono stati effettuati campionamenti al Giorno 0, 7, 30 e sul prodotto finito per la determinazione di: Conta Mesofila Totale, batteri lattici (LAB), *Pseudomonas* spp., clostridi solfito-riduttori, stafilococchi coagulasi positivi, *Clostridium botulinum* e *Listeria monocytogenes*; Sono stati valutati anche il peso, il pH e l'attività dell'acqua (aW); Al termine del periodo di stagionatura per ciascun lotto, inoltre, è stata eseguita una titolazione dei nitrati residui ed una valutazione dei principali attributi di interesse sensoriale (consumer test). L'analisi sulle polveri vegetali ha evidenziato un contenuto di 50.000 ppm e di 30.000 ppm per la polvere di sedano e la polvere di spinaci, rispettivamente. In accordo con quanto trovato in letteratura, l'aggiunta dello 0,3% di polvere ha potuto, così, garantire un apporto in nitrati di 150 mg/Kg e di 90 mg/Kg nel prodotto appena insaccato. L'analisi sul prodotto finito ha mostrato, per tutti i lotti con polveri vegetali, valori al di sotto del limite di sensibilità. L'andamento del pH è simile per tutte le tesi in esame, al termine del periodo di stagionatura GC e GSeB, mostrano valori tendenzialmente più bassi rispetto agli altri lotti. Differenze tra i campioni provenienti dai vari lotti, pur se lievi, sono state registrate relativamente ai valori di aW. Alla fine del processo di stagionatura il GC presentava un valore di 0,840, mediamente inferiore di 0,015 unità rispetto agli altri campioni. I LAB hanno rappresentato il gruppo microbico maggiormente presenti durante l'intero periodo di stagionatura e hanno mostrato un andamento sostanzialmente simile in tutti i lotti. I dati derivanti dal consumer test hanno mostrato un maggiore apprezzamento nel GC. Gli stessi attributi, tuttavia, per GSe, GSeB e GSpB si sono uniformemente posizionati intorno a valori più elevati indicando un giudizio decisamente più che positivo, rispetto al GN che è stato decisamente bocciato. I nitrati di origine vegetale, in polvere o in succo, offrono un elevato potenziale come sostituti naturali dei nitrati nelle carni lavorate. In un'epoca in cui il consumatore è bombardato da un'ampia offerta di prodotti "senza", la presente ricerca offre un prodotto, o una serie di prodotti, in cui gli ingredienti hanno una loro identità. L'utilizzo di polveri vegetali, infatti, potrebbe creare una linea di prodotti 100% naturali, biologici o addirittura topici. L'utilizzo di fonti vegetali, infatti, potrebbe essere la scusa per riscoprire antiche varietà quali l'aglio rosso di Sulmona o la lattuga della Rivera dell'Aquila.

## C019

### Restrizione territoriale dell'infezione da virus dell'epatite E in cinghiali cacciati in Emilia-Romagna

Silvia Bonardi<sup>1\*</sup>, Virginia Filipello<sup>2</sup>, Enrico Pavoni<sup>2</sup>, Valentina Carta<sup>2</sup>, Margherita Corradi<sup>3</sup>, Stefano Gilioli<sup>3</sup>, Marina Nadia Losio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Parma;

<sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Sede di Brescia; <sup>3</sup>Ente di Gestione per i Parchi e la Biodiversità Emilia Occidentale, Langhirano (PR), Italia

Scopo: Il virus HEV causa nell'uomo l'epatite E, simile nella sintomatologia all'epatite A, ma talvolta dal decorso più severo. HEV appar-

tiene alla famiglia Heperviridae ed è l'unico membro del genere Hepevirus. Il genoma è costituito da RNA monocatenario a polarità positiva ed il virione è privo di envelope. Ad oggi, se ne conoscono otto genotipi di cui quattro rilevanti per l'uomo: i genotipi 1 e 2 esclusivi dell'uomo ed i genotipi 3 e 4 che infettano l'uomo, il maiale, considerato il principale serbatoio animale, il cinghiale, gli ibridi suino-cinghiale, i cervi ed altri mammiferi selvatici. Essendo accertato il ruolo del suino allevato in Emilia-Romagna quale portatore del virus HEV di genotipo 3, lo studio ha voluto far luce sul ruolo del cinghiale (*Sus scrofa*) per evidenziare possibili rischi di trasmissione al consumatore di prodotti a base di carne di cinghiale. Materiali e Metodi: Tra novembre 2018 e marzo 2019 sono stati prelevati campioni di fegato da 105 cinghiali abbattuti in quattro aree collinari della provincia di Parma e Piacenza. Gli animali erano rappresentati da 68 femmine, di cui 38 gravide, e 37 maschi. Il peso vivo dei soggetti variava da 16 kg a 108 kg. I soggetti sono stati raggruppati nelle seguenti classi di età: 35 "giovani" (classe 0; <12 mesi), 22 "subadulti" (classe 1; 13-24 mesi) e 48 "adulti (classe 2; >24 mesi) sulla base dell'eruzione dei denti. I campioni di tessuto epatico sono stati congelati a -20°C. La ricerca di RNA virale è stata effettuata con *One-Step RT Real-Time PCR* con primers specifici per la regione ORF2 del genoma virale. Risultati: La prevalenza di soggetti infetti dal virus HEV è risultata pari al 19,05% (prevalenza apparente secondo Wilson, IC al 95%: 12,7-27,6). Tuttavia, i positivi erano concentrati in un'unica zona di circa 13 kmq, in cui la prevalenza pertanto è risultata del 27,4% (20/73, IC al 95%: 18,5-38,6). Nelle rimanenti tre aree, distanti tra loro alcune decine di km e che coprivano un'area complessiva di 33 kmq, i 32 cinghiali abbattuti sono risultati negativi. Nella zona in cui sono stati riscontrati i cinghiali infetti non vi sono allevamenti suinicoli, mentre erano stati segnalati gruppi familiari di cervi (*Cervus elaphus*) nei mesi precedenti. Nel territorio in cui sono state trovate positività, la prevalenza è risultata differire tra le classi di età: maggiore nei giovani (52,0%; 13/25) rispetto ai subadulti (31,3%; 5/16) e agli adulti (6,3%; 2/32). Tali differenze di prevalenza, testate attraverso regressione logistica, sono risultate statisticamente significative ( $p=0.00029$ ). Conclusioni: Lo studio mette in evidenza l'infezione da virus HEV nei cinghiali in provincia di Parma, come osservato in altre province della regione Emilia-Romagna. La maggiore incidenza di infezione nei soggetti giovani è in linea con quanto descritto nella specie suina, in cui gli animali di età compresa tra 3 e 6 mesi sono i maggiori escretori del virus HEV. Tuttavia, a differenza di indagini precedenti, è evidente che l'infezione da virus HEV abbia coinvolto esclusivamente animali a stretto contatto tra loro e presenti in un'area in cui la contiguità spaziale tra i soggetti infetti, l'assenza di suini e la contestuale presenza di cervi, permetta di ipotizzare una trasmissione cervo-cinghiale. Indipendentemente dalle ipotesi epidemiologiche, rimane il problema sanitario rappresentato dalla possibile contaminazione da virus HEV di prodotti derivati da fegato e carne di cinghiale.

## C020

### Valutazione dell'influenza dello stordimento sul benessere animale durante le macellazioni religiose

Roberta Barrasso\*, Elisabetta Bonerba, Edmondo Ceci, Antonio Alò, Anna Mottola, Patrizia Marchetti, Gaetano Vitale Celano, Giancarlo Bozzo

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

Il cortisolo plasmatico e i suoi metaboliti sono indicatori fisiologici

di stress, cosiddetti animal-based. Il metodo di macellazione può influenzare i loro livelli, giocando un ruolo importante nella corretta acidificazione della carne al termine delle procedure di macellazione. Lo scopo dello studio era determinare e confrontare i valori di cortisolo plasmatico in bovini macellati attraverso le normali procedure, che includono lo stordimento con pistola a proiettile captivo, e quelli degli animali macellati usando il metodo Halal, che non comporta alcun tipo di stordimento. Un secondo obiettivo era confrontare i dati ottenuti dagli animali macellati mediante rito islamico con i risultati di uno studio analogo che prevedeva il confronto tra macellazione tradizionale e rito religioso ebraico. Lo studio è stato condotto su un totale di sessanta bovini maschi di razza Charolaise di otto mesi di età, allevati in paddock outdoor. Gli animali sono stati suddivisi in due gruppi sperimentali sulla base del metodo di macellazione adottato (tradizionale e Halal), costituiti ognuno da trenta animali. Il sangue è stato raccolto in due momenti diversi della produzione: (i) in allevamento, una settimana prima della macellazione (T0) e (ii) durante la iugulazione (T1). Quindi, la concentrazione del cortisolo plasmatico è stata rilevata mediante ELISA test. Lo studio ha evidenziato che durante le due fasi considerate nel modello sperimentale, la variazione più rilevante dei livelli di cortisolo plasmatico è stata osservata durante la fase di iugulazione. I trenta bovini macellati con metodo tradizionale presentavano valori di cortisolo plasmatico, in allevamento, pari a  $4,06 \pm 1,94$  nmol/l, mentre i valori medi riscontrati nei trenta soggetti macellati con metodo Halal erano pari a  $3,26 \pm 1,01$  nmol/l ( $p=0,049$ ). Viceversa, i valori medi rilevati durante la fase di iugulazione erano pari a  $43,72 \pm 12,09$  e  $88,81 \pm 41,02$  nmol/l, rispettivamente negli animali macellati previo stordimento con pistola a proiettile captivo e in quelli macellati con metodo Halal ( $p=0,000$ ). Inoltre, i valori di cortisolo plasmatico ottenuti durante la macellazione Halal erano più elevati rispetto a quelli rilevati nello studio precedente in cui si valutava l'andamento del cortisolo plasmatico durante la macellazione con rito religioso ebraico ( $68,70 \pm 30,61$  nmol/l). Il diverso andamento del cortisolo plasmatico, rilevato nelle due tipologie di macellazione rituale, potrebbe essere spiegato sulla base delle procedure più o meno restrittive adottate dai responsabili delle comunità religiose. Peraltro lo studio solleva questioni riguardanti il benessere degli animali e le possibili influenze del cortisolo plasmatico sulla qualità delle carni.

## C021

### ***Staphylococcus aureus* meticillino-resistente nella filiera suinicola: prevalenza ed epidemiologia molecolare**

Ancuta Cezara Simon<sup>1\*</sup>, Valentina Baldo<sup>2</sup>, Nadia Losio<sup>2</sup>, Virginia Filipello<sup>2</sup>, Angelo Colagiorgi<sup>1</sup>, Federico Scali<sup>2</sup>, Emanuela Zanardi<sup>1</sup>, Sergio Ghidini<sup>1</sup>, Adriana Ianieri<sup>1</sup>, Giovanni Loris Alborali<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Università degli Studi di Parma, Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Parma; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sezione di Brescia, Italia

Scopo di questo lavoro è valutare la prevalenza e le caratteristiche molecolari di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistenti (MRSA) in allevamenti suinicoli nel Nord Italia. 50 allevamenti di suini da ingrasso situati in Lombardia sono stati campionati per la presenza di MRSA. Complessivamente sono stati raccolti 400 campioni: 150 in allevamento (3 siti ambientali) e 250 in macello, da animali provenienti dagli stessi allevamenti (5 animali/partita). Gli MRSA sono

stati identificati attraverso analisi fenotipica e PCR multiplex e caratterizzati biomolecolarmente mediante spa-typing e MultiLocus Sequence Typing (MLST). Un totale di 37/400 campioni (13 da allevamento e 24 da macello) è risultato positivo alla ricerca di MRSA in 21/50 allevamenti (prevalenza: 42%). Di questi, 4/21 sono risultati positivi per la presenza di MRSA sia in allevamento che in macello. La caratterizzazione molecolare ha evidenziato che solo in un caso i campioni prelevati in allevamento e dagli stessi animali al macello hanno mostrato uguali caratteristiche biomolecolari. Nelle altre aziende si è, invece, rilevata la presenza di più genotipi di MRSA. Dai risultati della tipizzazione con MLST è emerso che il ST predominante è il ST398 (24 campioni), seguito dal ST97 (3 campioni). I profili ST30 e ST4894 sono stati rilevati in un solo campione ciascuno. Inoltre, in uno degli isolati è stato identificato un nuovo ST non descritto in precedenza. L'analisi spa-typing ha identificato 6 profili all'interno del ST398. Lo spa-type t899 è il più diffuso (12 campioni), seguito dagli spa-types t011 (5), t18494 (3), t1939 (2), t1200 (1) e t034 (1). All'interno dei cloni presentanti ST97 sono emersi due spa-types: t1730 (2/3) e t4795 (1/3). Gli altri isolati hanno mostrato i seguenti profili genici: ST30/t318, ST4894/t18494, STnew/t1730. In accordo con i dati in letteratura, il ST398 è risultato essere quello predominante, con due principali spa-types identificati (t899 e t011). Lo spa-type t899 è il più diffuso nella filiera suinicola in Italia, sebbene sia emerso solo nell'ultimo decennio. Allo stesso modo, lo spa-type t011 è uno dei profili più frequentemente isolati nei suini in Unione Europea (UE). Gli spa-types t034 e t1939 sono largamente diffusi nella filiera suinicola in UE, mentre i profili ST398/t1200 e ST398/t18494 non sono mai stati riportati in precedenza nei suini. Riguardo al secondo ST isolato con maggior frequenza (ST97), entrambi gli spa-types identificati al suo interno (t1730 e t4795) sono già stati isolati in precedenza nella filiera suinicola, sebbene siano profili prevalentemente associati ai bovini. È stata riscontrata la presenza di un clone presentante ST30 conosciuto come community-acquired MRSA agente di forme ascessuali e necrotiche. Gli altri ST identificati (ST4894 e STnew) sono riportati nella filiera suinicola per la prima volta in questo lavoro. In 6 allevamenti sono stati riscontrati più spa-types, la cui presenza potrebbe rappresentare fonte di scambio di determinanti per la virulenza tra MRSA. Dal confronto con la letteratura, è emerso che molti profili identificati in questo lavoro sono stati rilevati anche in campioni prelevati da personale esposto ai suini (es. allevatori, operatori del macello) e da prodotti di carne suina, evidenziando così la capacità degli MRSA di colonizzare diversi ospiti e gli alimenti stessi, con possibili potenziali implicazioni per la salute pubblica.



## Il Sessione

### C022

#### La classificazione delle carcasse bovine: nuovi metodi di telerilevamento biometrico

Laura Stinga<sup>1\*</sup>, Giancarlo Bozzo<sup>1</sup>, Gigliola Ficco<sup>2</sup>,  
Alessandra Emilia Savarino<sup>1</sup>, Roberta Barrasso<sup>1</sup>,  
Giuseppina Tantillo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Valenzano (BA); <sup>2</sup>Responsabile gestione qualità/ambiente, Industria lavorazione carni Siciliani S.p.a., Palo del Colle (BA); <sup>3</sup>Dipartimento Interdisciplinare di Medicina, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia

In Europa la classificazione delle carcasse è uno strumento della Politica Agricola Comune (PAC) e dell'Organizzazione Comune dei Mercati (OCM) destinato a sostenere e stabilizzare i mercati, contrastare le turbative e gli eventi che rischiano di mettere in crisi le produzioni attraverso la messa a punto di processi nelle transazioni commerciali. Gli impianti di macellazione riconosciuti dell'Unione Europea, ai sensi dell'articolo 4 del regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo, adottano processi precisi al fine di garantire che carcasse o mezzene di bovini, di età non inferiore a otto mesi siano muniti di bollo sanitario e quindi classificate e identificate in conformità alla tabella unionale di classificazione delle carcasse (Reg. (UE) n. 1182/2017, capo 1, allegato I). Pertanto, tale classificazione si basa su tre criteri: (i) attribuzione della "Categoria", (ii) della "Conformazione" (SEUROP) e (iii) dello "Stato di Ingrassamento" (SI). Alla fine del processo di classificazione, a ogni carcassa è attribuito un codice, costituito da due lettere e un numero, operazione che prende il nome di "Identificazione". Gli Stati Membri provvedono affinché la classificazione sia eseguita da addetti qualificati in possesso di licenza e/o mediante metodi di classificazione autorizzata, che prevedano l'uso di tecniche automatizzate, semi-automatizzate o manuali. In tal senso la società "West System", con la sua divisione "West-Zootech", ha sviluppato un applicativo su piattaforma Android (APP SEUROP) che consente, attraverso l'uso di uno smartphone, di ottenere una classificazione della conformazione (SEUROP) e dello stato d'ingrassamento (SI). Tale applicativo permette di scattare una foto della carcassa e andare a determinare parametri angolari necessari alla determinazione della classe di "conformazione", legata alla massa muscolare dell'animale, valutata in base alla convessità di alcune regioni della mezzena. Allo stesso modo consente di valutare il rapporto fra superficie di massa magra e superficie totale della carcassa al fine di determinare lo "Stato di Ingrassamento" e completare così la classificazione. Durante la fase di ricerca e sviluppo, l'APP SEUROP (brevetto n. 141352 del 23/01/2015) è stata in grado di ottenere misurazioni oggettive, ben nell'84% delle valutazioni fatte. Lo scopo del nostro studio era compiere una valutazione sulla differente determinazione della classificazione europea di qualità (SEUROP e SI) delle carcasse bovine in relazione all'esperienza del personale coinvolto (esperienza >5 anni ed esperienza <5 anni), confrontando i risultati con quelli elaborati dall'applicativo su piattaforma Android (APP SEUROP). Lo sviluppo di tali strumenti ha la finalità di ottenere una classificazione sempre più oggettiva e accurata, diminuendo gli errori e le frodi, e superando l'ostacolo dovuto all'inadeguatezza delle valutazioni eseguite ad occhio nudo, evidentemente empiriche e poco precise.

### C023

#### La macellazione del suino a domicilio nella penisola porrentina: quadri anatomopatologici riscontrati all'esame *post-mortem* e risultati degli esami batteriologici

Domenico Mollica<sup>1\*</sup>, Yolande Thérèse Rose Proroga<sup>2</sup>,  
Francesco Cacace<sup>3</sup>, Daniela Cristiano<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Veterinario Dirigente ASLNA3SUD-UO Vet. 59, Penisola Sorrentina; <sup>2</sup>Veterinario Dirigente-Responsabile UOS Microbiologia Alimenti IZSM, Portici (NA); <sup>3</sup>Veterinario Libero Professionista, <sup>4</sup>Tecnico Laboratorio Biomedico, UOS Microbiologia degli Alimenti IZSM, Portici (NA), Italia

La pratica della macellazione del suino a domicilio in Penisola Sorrentina riconosce una vecchia tradizione, legata ad aspetti socio-culturali, ed è influenzata da una serie di superstizioni e credenze popolari. Lo scopo di questo lavoro è dare un quadro sulle problematiche igienico - sanitarie riscontrate durante la campagna di macellazione dal dicembre 2018 al marzo 2019. Le metodiche utilizzate sono quelle regolamentate dall'art.13 del R.D. n.3298/1928 e dalla normativa Regionale (D.D. Regione Campania n.125 del 28/04/2017 e dal D.G.R.C. n.2234/2002). Su n.943 suini macellati nei sei comuni della Penisola Sorrentina è stato esaminato un campione di n.142 soggetti macellati nel comune di Massa Lubrense. I risultati di questo lavoro sono stati riassunti e riuniti per organo controllato nella visita *post-mortem*. Per alcuni soggetti si è dovuto ricorrere all'esame batteriologico delle carni, per determinare la contaminazione profonda delle masse muscolari. A tal fine è stata valutata la presenza di *Salmonella* spp, (ISO 6579-1) conta microrganismi mesofili a 30°C (ISO 4833-1) e conta *Clostridium perfringens* (ISO 7937). Sul totale degli organi sequestrati (200 organi distrutti oltre ad una testa) hanno avuto un peso importate quelli sottratti al consumo umano per inappropriate metodiche di dissanguamento: ben 56 (pari al 28%) Il dato assume la sua massiva valenza per i polmoni dei quali il 54% (49) sono stati eliminati per insufflazione sanguigna. Si sono rinvenuti quadri anatomopatologici multiorgano (polisierositi) nel 20% del totale. 51 reni sono stati oggetto di sequestro, 26 dei quali (il 50%) per il riscontro di cisti urinarie; in 19 casi (37%) venivano refertati infarti bianchi. Nel fegato le lesioni più frequentemente riscontrate erano imputabili all'esito di migrazioni di larve di ascaridi: 19 casi su 32 organi (il 60%); 8 organi sono stati scartati poiché interessati da lesioni degenerative. 17 delle 21 milze eliminate (81%) risultavano interessate da perisplenite. Il 100% dei 7 cuori distrutti erano interessati da pericardite. Il riscontro di un grosso ascesso, nella regione della guancia, è stato motivo di esclusione di una testa di suino. 2 carcasse sono risultate inidonee al consumo umano, in seguito all'esito degli esami batteriologici su campione di muscolo profondo prelevato con strumenti sterili e trasportato in contenitori idonei a temperatura di refrigerazione. Questi difatti hanno evidenziato la presenza di una conta mesofila a 30°C, in profondità pari a 1,6 x10<sup>6</sup> ufc/g in una carcassa e di 2 x 10<sup>6</sup> ufc/g nell'altra. In entrambe erano assenti la *Salmonella* spp e il *Cl.perfringens*. Gli esami venivano richiesti sulla scorta dei quadri anatomopatologici evidenziati dall'ispezione *post-mortem*. In conclusione i dati raccolti evidenziano l'importanza di un'adeguata formazione dei norcini oltre all'essenzialità della figura del Veterinario Igienista che in questo caso oltre ad assicurare, con il suo operato (con la visita ante-mortem e la successiva post mortem) la sicurezza alimentare del prodotto di autoconsumo, entrando nelle realtà locali, può fungere da comunicatore di educazione sanitaria alimentare, preservando la storia e la tradizione delle comunità contadine del territorio della Penisola Sorrentina e consentendo al consumatore un prodotto di nicchia dalle indiscutibili qualità organolettiche.

## C024

**Shelf life di hamburger di carne bovina additivati con estratti vegetali**

Raffaele Marrone<sup>1\*</sup>, Giorgio Smaldone<sup>2</sup>, Rosa Luisa Ambrosio<sup>1</sup>, Lucia Vollano<sup>1</sup>, Marina Ceruso<sup>1</sup>, Aniello Anastasio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Università degli Studi di Napoli "Federico II", Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Napoli; <sup>2</sup>Università degli Studi di Napoli "Federico II", Dipartimento di Agraria, Napoli, Italia

Il reg. UE 1129/11 ammette per le preparazioni di carne l'uso di lattati, ascorbati e citrati. Il consumatore, tuttavia, predilige un prodotto privo di additivi di sintesi. La barbabietola rossa (*Beta vulgaris*), oltre alle proprietà coloranti, contiene polifenoli, flavonoidi e altri antiossidanti funzionali utili a contrastare l'ossidazione lipidica. Scopo del lavoro è stato la valutazione della *shelf-life* di hamburger di carne bovina additivati con varie formulazioni di barbabietola. Gli hamburger sono stati preparati e confezionati presso un laboratorio annesso ad un esercizio di somministrazione di alimenti e le determinazioni analitiche sono state eseguite presso i laboratori del Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali dell'Università di Napoli Federico II. Lo studio sperimentale è stato diviso in n. 2 tornate (P1 e P2). In P1, oggetto dello studio sono stati n.1 campione controllo (A), n. 1 campione con estratto di barbabietola in polvere allo 0,8% (B1) e n. 2 con estratto liquido di barbabietola al 5% (B2) e 10% (B3), conservati senza preimballo. In P2, oltre al campione controllo (C), sono stati analizzati n. 1 campione con estratto di barbabietola in polvere allo 0,8% (D1) e n. 2 con estratto di barbabietola in soluzione acquosa al 2% (D2) e 5% (D3), confezionati sottovuoto. I campioni sono stati stoccati a temperatura di refrigerazione. Sui campioni sono state eseguite in triplo (ad 1, 6 e 9 giorni dalla preparazione) analisi fisico-chimiche e microbiologiche. Sono stati determinati pH ed aw, colore CIE-Lab, TBA, composizione centesimale, carica batterica totale (CBT), coliformi, *Pseudomonas* spp., *E. coli*, lattobacilli, enterobatteriaceae, lieviti e muffe. È stata, inoltre, eseguita una valutazione sensoriale mediante panel test. All'esame sensoriale il punteggio migliore è stato ottenuto dal D2. Il campione con la & maggiore di barbabietola (B3), invece, a causa dell'intensa colorazione violacea per l'elevata percentuale di estratto, è risultato inidoneo alla vendita e, pertanto, escluso da P2. I risultati relativi a pH ed aw non hanno evidenziato differenze significative tra P1 e P2; i valori più bassi sono stati evidenziati in B3 e D3. I livelli di malonaldeide sono risultati inferiori nei campioni P2, in particolare in D2 e D3, a conferma dell'effetto antiossidante sinergico dell'estratto vegetale e del confezionamento sottovuoto. All'analisi colorimetrica i campioni B2, D2 e D3 hanno presentato spettro di colore tendente alla zona del blu (b\*) ed al rosso (a\*), perdendo progressivamente luminosità (L\*). I risultati microbiologici hanno evidenziato che in P1 tutti i campioni, eccetto B3, già a 6 giorni dalla data di preparazione presentavano cariche elevate di lieviti e muffe. In P1, inoltre, i valori di *Pseudomonas* spp. ai tre intervalli diminuivano all'aumentare della percentuale di estratto. In P2 gli hamburger hanno mostrato cariche più basse in termini di CBT e *Pseudomonas* spp. rispetto ai campioni in P1, ma meno evidente era la riduzione della carica batterica in relazione alla % di estratto. I valori di coliformi, enterobatteri e lattobacilli in P1 e P2 non risultavano dipendere né dalla % o formulazione dell'estratto né dalla tipologia di confezionamento. In conclusione, è possibile affermare che l'utilizzo di barbabietola al 2% in soluzione acquosa è un giusto compromesso per l'ottenimento di una preparazione con una discreta *shelf-life* ed apprezzabile dal punto di vista organoleptico.

## C025

**Nuovi approcci analitici per la determinazione e quantificazione di *Campylobacter* in prodotti tipici di origine animale**

Maria Francesca Peruzi<sup>1\*</sup>, Yolande Thérèse Rose Proroga<sup>2</sup>, Federico Capuano<sup>2</sup>, Federica Corrado<sup>2</sup>, Serena Santonicola<sup>3</sup>, Dario De Medici<sup>4</sup>, Elisabetta Delibato<sup>4</sup>, Nicoletta Murru<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni animali, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli, <sup>2</sup>Dipartimento di Microbiologia degli alimenti, Istituto Zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, Portici, (NA); <sup>3</sup>Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute "Vincenzo Tiberio", Università degli Studi del Molise, Campobasso; <sup>4</sup>Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Roma, Italia

*Campylobacter* rappresenta il principale agente zoonotico causa di malattie a trasmissione alimentare a livello europeo. Pertanto, al fine di sviluppare nuove strategie di prevenzione è necessario avere a disposizione di metodologie innovative per la sua rapida identificazione e quantificazione negli alimenti. I metodi di analisi di riferimento per la determinazione e quantificazione di questo patogeno richiedono più di 48 ore per definire la presenza/numerazione del microrganismo. L'obiettivo generale del lavoro è stato quello di sviluppare metodi quali-quantitativi, basati rispettivamente sull'uso della *Real-Time* PCR (q-PCR) e della Droplet Digital PCR (ddPCR), al fine di avere a disposizione dei sistemi rapidi e specifici per valutare la reale prevalenza del patogeno nella filiera alimentare. Utilizzando il gene 16S rRNA come regione target per i primer e le sonde come sistema di rilevazione, è stata sviluppata una qPCR con un Controllo Interno di Amplificazione non competitivo. La selettività del metodo è stata valutata analizzando 26 differenti ceppi *Campylobacter* e 40 ceppi non-*Campylobacter*. Per verificare l'applicabilità della piattaforma sono stati sperimentalmente contaminati 5 campioni di carne suina; ciascun campione è stato diviso in tre aliquote: un'aliquota è stata utilizzata come controllo negativo, le altre due sono state inoculate con 10 e 102 UFC/ml di *Campylobacter* (*C. jejuni*). Le aliquote, dopo la fase di incubazione, sono state sottoposte all'analisi mediante qPCR, previa estrazione del DNA batterico, mediante Chelex 100. Il metodo qualitativo sviluppato, è stato poi implementato per realizzare una piattaforma di ddPCR al fine di effettuare una quantificazione assoluta del DNA del patogeno. L'ottimizzazione è stata effettuata analizzando soluzioni scalari (106 - 10 ufc/ml) di un ceppo di riferimento di *C. jejuni*. Al fine di valutare l'applicabilità delle metodiche sviluppate, 54 prodotti tipici di origine animale sono stati analizzati mediante qPCR, ddPCR ed i metodi microbiologici di riferimento. I risultati relativi alla selettività di entrambi i metodi hanno evidenziato il 100% di inclusività e di esclusività in quanto i ceppi di *Campylobacter* analizzati sono stati amplificati ed i ceppi non-*Campylobacter* sono risultati negativi. I risultati ottenuti dall'analisi con qPCR dei campioni di suino, sperimentalmente contaminati, hanno mostrato una concordanza del 100% rispetto ai risultati ottenuti con il metodo di riferimento. L'analisi mediante ddPCR ha evidenziato un livello minimo di rilevabilità di 10 UFC/ml e l'impossibilità di quantificare livelli di concentrazione superiori a 105 UFC/ml, a causa della eccessiva saturazione delle droplet. Infine, l'analisi dei campioni reali ha evidenziato l'assenza del patogeno e la concordanza delle metodiche sviluppate con i metodi di riferimento. In conclusione, le piattaforme molecolari sviluppate rappresentano dei modelli che, dopo accurata validazione, qualora adottati, sia nell'ambito del controllo ufficiale che nei piani di autocontrollo, consentirebbero di implementare la sicurezza lungo la filiera alimentare.

## C026

**Il sistema fresco-caldo e il secondo principio della termodinamica nella ristorazione collettiva: risultati preliminari**

Marta Castrica<sup>1\*</sup>, Katia Razzini<sup>2</sup>, Sara Panseri<sup>1</sup>,  
Claudia Balzaretto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze veterinarie per la salute, la produzione animale e la sicurezza alimentare "Carlo Cantoni", Università degli Studi di Milano;

<sup>2</sup>U.N.P.I.S.I., Firenze, Italia

I processi produttivi, in particolare il sistema fresco-caldo, nella loro apparente semplicità produttiva riservano agli operatori del settore della ristorazione numerosi inconvenienti che danno luogo ad una scadente prestazione qualitativa della produzione e ad una potenziale area di rischio microbiologico a causa della mancata conoscenza di principi fisici, quali ad esempio il secondo principio della termodinamica. Il Secondo principio della termodinamica stabilisce che il calore non può passare spontaneamente da un corpo più freddo ad uno più caldo e che molti eventi termodinamici, come appunto il passaggio di calore da un corpo caldo a uno freddo sono irreversibili, e l'entropia di un sistema isolato lontano dall'equilibrio termico tende ad aumentare nel tempo, finché l'equilibrio non è raggiunto. I sistemi produttivi, in particolare il Fresco-Caldo applicati nei centri cottura ad elevata produzione pur inseriti in un disegno spaziale corretto sono affetti da flussi tempo-temperatura caratterizzati da momenti non adeguatamente progettati durante i quali si osservano dei punti critici. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare in fase preliminare come le nuove tecnologie possano essere a supporto della filiera e dei processi produttivi. A tal fine è stato sperimentato uno specifico sistema di accumulo di calore passivo e attivo: "Smart Heater" (SH) che rende un contenitore isoterico in polipropilene espanso un avanzato mantenitore di cibi pronti. Le prove sono state condotte su contenitori SH consegnati presso il laboratorio di microbiologia e ispezione degli alimenti (VESPA) all'arrivo ogni SH è stato identificato tramite uno specifico ID, gli SH utilizzati nella sperimentazione contenevano 3 gastronorm da h10. Il disegno sperimentale è stato diviso in tre diverse fasi di test: Test 1: Valutazione funzionalità SH in coerenza al manuale d'uso e monitoraggio del tempo necessario al raggiungimento della temperatura di esercizio (65°C); Test 2: Valutazione della coerenza dei valori di temperatura sul display dell'SH e data logger (Testo Saveris); Test 3: Prove di tenuta termica con rilevazione tramite data logger posizionato nel centro geometrico delle gastronorm da h10 senza coperchio e senza alimenti; La stessa prova è stata ripetuta riempiendo le gastronorm con acqua calda (>75°C), riproducendo quanto previsto dalla NORMA UNI EN 12571:1999: "Materiali ed articoli in contatto con gli alimenti - Unità di trasporto per contenitori per la ristorazione collettiva contenenti alimenti preparati - Requisiti di temperatura ed igiene e metodi di prova". I risultati hanno mostrato che i contenitori SH, contenenti un accumulatore di calore, sono dei mantenitori di temperatura, che garantiscono una stabilità termica (>65°C, coerente a quanto richiesto dalla normativa vigente. Si è notato comunque una differenza, seppur molto contenuta, di prestazione termica fra i ripiani posti a diverse altezze, sebbene nel rispetto di quanto richiesto dalla norma UNI EN 12571. In conclusione, la filiera produttiva della ristorazione collettiva dovrebbe avvalersi maggiormente di tecnologie innovative al fine di offrire prestazioni rispondenti ai criteri di sicurezza igienico sanitaria previsti dalle normative e per assicurare un miglior mantenimento delle caratteristiche sensoriali. La progettazione dei flussi deve essere sempre in funzione delle caratteristiche tecniche delle

attrezzature, soprattutto dei parametri Tempo-Temperatura e dei principi fisici che governano l'equilibrio termico.

## C027

**Sicurezza alimentare nella ristorazione collettiva: conoscenza e corretta applicazione delle Good Hygiene Practices e Good Manufacturing Practices da parte degli operatori addetti alla ristorazione**

Chiara Disanto<sup>1\*</sup>, Angela Dambrosio<sup>2</sup>, Nicoletta Quaglia<sup>2</sup>,  
Giancarlo Bozzo<sup>1</sup>, Saverio Tangorre<sup>1</sup>, Antonio Tritto<sup>3</sup>,  
Gaetano Vitale Celano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Valenzano (BA); <sup>2</sup>Dipartimento delle emergenze e dei trapianti d'organo, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Policlinico, Bari; <sup>3</sup>Dirigente ADISU Bari, Agenzia per il diritto allo studio universitario della regione Puglia, Bari, Italia

La qualità igienica degli alimenti è legata soprattutto ai comportamenti adottati da tutti coloro che, a vario titolo, intervengono alle diverse fasi della produzione, a partire dall'approvvigionamento della materia prima fino alla fase di somministrazione al consumatore. I sistemi di controllo hanno evidenziato come la gran parte delle malattie a trasmissione alimentare non sia quasi mai legata allo stato di salute degli operatori alimentari ma sia, invece, legata alle procedure di approvvigionamento, preparazione, conservazione e somministrazione dei cibi. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di raccogliere informazioni sul livello di conoscenze in materia di sicurezza alimentare, di corretta applicazione del piano di autocontrollo e sulle attitudini degli operatori addetti alla ristorazione collettiva. Lo studio è stato condotto presso 15 mense site in Puglia mediante procedure di *audit* che hanno riguardato l'ispezione visiva delle strutture (centri cottura e sale catering) e delle attività di preparazione e somministrazione degli alimenti e interviste agli operatori addetti alla ristorazione. I risultati ottenuti dalle verifiche riflettono una buona conoscenza e comportamenti corretti tra gli intervistati. Il 65% degli intervistati ha dichiarato di essere in possesso di un livello di istruzione medio variabile dalla scuola media alla superiore, con stabilità nello stesso posto di lavoro e posizioni di maggiore responsabilità nel 30% dei soggetti oggetto di studio. Il 79% del personale ha dimostrato di conoscere quelle che sono le buone pratiche igienico-sanitarie. La maggior parte delle non conformità osservate nel corso delle verifiche hanno riguardato la mancanza di un adeguato piano di formazione, inadeguata applicazione delle procedure HACCP, temperature inadeguate dei piatti finiti, mancanza di un sistema di tracciabilità adeguato degli alimenti, inadeguata gestione delle zone di stoccaggio degli alimenti. Il risultato dello studio evidenzia che, sebbene la maggior parte del personale addetto al servizio di ristorazione sia a conoscenza di alcuni aspetti dell'igiene alimentare e della sicurezza alimentare, rimangono significative lacune nelle pratiche di sicurezza alimentare. I risultati ottenuti hanno mostrato la necessità di migliorare sia le conoscenze che le pratiche in materia di igiene e sicurezza alimentare al fine di minimizzare il rischio di trasmissione delle food-borne diseases attraverso una più attenta pianificazione, attuazione, monitoraggio e valutazione dei programmi di formazione del personale addetto alla ristorazione collettiva alla luce di quanto previsto dal quadro normativo europeo in campo alimentare.



## I Sessione

C028

### Isolamento di *Yersinia pseudotuberculosis* in una bovina affetta da mastite: un potenziale pericolo trasmesso dal latte

Andrea Lorusso\*, Luciana Addante, Loredana Capozzi, Angelica Bianco, Laura Del Sambro, Maria Ester Gallitelli, Antonio Parisi

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Italia

*Yersinia pseudotuberculosis* è un patogeno appartenente alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*, capace di infettare una vasta gamma di animali domestici e selvatici nonché l'uomo nel quale provoca una sintomatologia gastroenterica che può evolvere in pseudoappendicite. Nei bovini pochi e frammentari dati sono disponibili riguardo la capacità di questo microrganismo di causare condizioni patologiche a carico della mammella. In questo lavoro è descritto un raro caso di mastite subclinica da *Y. pseudotuberculosis* in una bovina in Italia. Campioni di latte provenienti da un allevamento composto da 10 bovine in lattazione, di razza bruna alpina, sono stati sottoposti ad esame colturale secondo procedura standard ed a conta delle cellule somatiche. Da un solo quarto di uno dei soggetti esaminati è stato isolato, in purezza, un bacillo Gram negativo, ossidasi negativo, catalasi positivo capace di fermentare il glucosio ma non lattosio e saccarosio. L'identificazione di specie è stata ottenuta mediante test biochimici e la sensibilità antibiotica nei confronti delle molecole di più comune impiego è stata valutata mediante metodo Kirby Bauer. L'identità dell'isolato è stata confermata tramite sequenziamento del 16S rRNA. Il ceppo è stato, successivamente, sottoposto al sequenziamento dell'intero genoma mediante Miseq (Illumina). Le sequenze sono state assemblate mediante Spades 3.12 e il draft genome è stato utilizzato per valutare in silico la presenza dei principali geni di virulenza quali il plasmide (pYV), l'isola di alta patogenicità (HPI), la esotossina mitogena superantigenica (YPM), l'invasina (inv), il locus di attacco e invasione (ail) e il pilo di tipo IV (pil). Si è proceduto, inoltre, alla determinazione mediante tool on line del sierotipo, del sequence type (ST) e dei principali geni correlati alla resistenza agli antimicrobici. L'isolato identificato come *Y. pseudotuberculosis*, è risultato sensibile alle molecole testate. È stata, inoltre, messa in evidenza la presenza di geni di virulenza (i.e., inv, ail, pil, HPI) ma non quella del plasmide pYV. Il microrganismo è risultato appartenere al sierotipo O:1a e l'analisi MLST in silico ne ha dimostrato l'appartenenza al ST42 secondo lo schema di Achtman, al ST96 secondo lo schema di McNally e come 3027 secondo lo schema wgMLST. Il bovino positivo, testato a distanza di otto mesi, è risultato ancora infetto e con un'elevata conta cellulare (>2000000), mostrando la presenza di un'infezione persistente. I restanti animali della mandria, sottoposti anch'essi ad una ulteriore valutazione, non hanno mostrato segni di infezione lasciando supporre una scarsa contagiosità del patogeno. Il ritrovamento persistente di *Y. pseudotuberculosis* nel latte di una bovina affetta da mastite subclinica suggerisce che tale condizione potrebbe rappresentare una fonte di infezione inaspettata per il consumatore e un pericolo potenziale per la sicurezza alimentare, principalmente associato al consumo di latte crudo o di prodotti lattiero-caseari ottenuti da latte crudo. Il latte di animali con mastite subclinica, infatti, non presentando differenze visibili rispetto al latte prodotto da animali sani, può essere raccolto normalmente unendosi, così, al latte di massa. Considerando la psicro-

filia del microrganismo, che ne permette la replicazione in condizioni di refrigerazione, la presenza di *Y. pseudotuberculosis* nel latte crudo dovrebbe essere considerata come un problema sanitario da non sottovalutare.

C029

### Infezione da *Mycobacterium caprae* in tre allevamenti di bovini da latte in Emilia-Romagna

Rossella Magnani<sup>1</sup>, Mauro Cavalca<sup>1</sup>, Marco Pierantoni<sup>1</sup>, Andrea Luppi<sup>2</sup>, Alice Proserpi<sup>2</sup>, Maria Pacciarini<sup>3</sup>, Mariagrazia Zanoni<sup>3</sup>, Marco Tamba<sup>4</sup>, Silvia Bonardi<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>Azienda USL di Parma, Servizio Veterinario; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Sede di Parma; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Sede di Brescia; <sup>4</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Sorveglianza Epidemiologica Emilia-Romagna (SEER); <sup>5</sup>Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie, Italia

Al *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) appartengono specie strettamente correlate tra loro capaci di infettare uomo e animali. La tubercolosi (TBC) bovina è una malattia zoonotica sostenuta principalmente da *M. bovis*; si segnalano, tuttavia, anche casi di infezione umana ed animale da *M. caprae*, generalmente prevalenti in alcuni paesi europei. Il presente lavoro mette in luce gli aspetti legati all'individuazione di episodi di infezione da *M. caprae* in tre allevamenti di bovini da latte della provincia di Parma, Emilia-Romagna, a seguito dei rilievi emersi durante l'ispezione *post-mortem* (PM). Si sottolinea pertanto l'importanza dell'ispezione PM nell'identificazione dei bovini infetti, avviati alla macellazione ordinaria in assenza di esito positivo o dubbio alle prove ufficiali di intradermoreazione alla tubercolina bovina PPD (IDT). Allevamento 1 (66 capi) - L'episodio risale al 12.09.2018, quando l'ispezione PM rileva la presenza di noduli a contenuto caseoso nei linfonodi tracheobronchiali, mediastinici e nel tessuto polmonare (complesso primario completo) di una vacca a fine carriera. L'esame istologico evidenzia lesioni granulomatose specifiche multiple, centro necrotico e cellule giganti tipo Langhans e l'esame colturale porta all'isolamento di *M. caprae*. Le prove di IDT eseguite in azienda a seguito dell'apertura del focolaio danno ripetutamente esito negativo, a differenza del  $\gamma$ -interferon test ( $\gamma$ -test) che rivela 10 capi positivi. Di questi, cinque presentano lesioni tubercolari all'ispezione PM e dal tessuto linfonodale si isola *M. caprae*. Lo stamping out non rivela lesioni nei capi rimanenti. Allevamento 2 (16 capi) - Il caso è segnalato in macello il 10.12.2018, con il rilievo di tisi perlacea alle sierose pleurica, parietale, epatica e splenica e di un complesso primario polmonare in una vacca a fine carriera. Gli allevamenti 1 e 2 erano situati nello stesso comune e l'inchiesta epidemiologica evidenziava scambio di animali tra loro. Le prove di IDT a seguito dell'apertura del focolaio evidenziano un capo positivo ed uno dubbio, mentre il  $\gamma$ -test individua 12 positivi. A seguito di stamping out, tutti i capi macellati presentano lesioni TBC linfonodali. Allevamento 3 (123 capi) - Controllato in dicembre 2018 in quanto epidemiologicamente correlato con l'allevamento 2 per l'introduzione di animali. Le prove di IDT danno inizialmente esito negativo, ma a febbraio 2019 si segnala un capo positivo che al macello presenta lesioni TBC linfonodali. In aprile 2019 le prove di IDT e  $\gamma$ -test segnalano capi positivi e dubbi, che tuttavia non mostrano lesioni TBC a seguito di stamping out. I tre episodi sono considerati un unico focolaio, in quanto epidemiologicamente correlati e causati da un unico genotipo di *M. caprae* (SB0418/VNTR

4,3,5,3,4,52,2,4,3,15,5). In Italia, come in Gran Bretagna, Spagna e Portogallo, l'intero paese non è ufficialmente indenne da TBC (OTF: officially free of bovine tuberculosis). Nel 2019 solo 8 regioni italiane e 15 province sono state dichiarate OTF secondo i criteri previsti dalla Decisione CE 2003/467 e ss.mm.ii. Tuttavia, il pericolo zoonotico rappresentato dalla tubercolosi bovina non deve essere trascurato nemmeno nelle regioni OTF, come l'Emilia-Romagna, considerando che esiste la possibilità che la prova IDT dia esito negativo. In questo contesto, il ruolo del veterinario ispettore assume un'importanza fondamentale a tutela della salute pubblica.

### C030

#### Definizione del cut-off epidemiologico per la valutazione dell'antibiotico resistenza di *Staphylococcus aureus* nella produzione del latte di pecora

Vincenzo Spanu, Francesca Piras, Christian Scarano\*, Salvatore Viridis, Maria Pina Meloni, Giuliana Siddi, Enrico Pietro Luigi De Santis, Carlo Spanu

Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Settore Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Sassari, Italia

Lo scopo della ricerca è stato quello di determinare la prevalenza e il profilo di antibiotico resistenza di *Staphylococcus aureus* (SA) isolato da latte crudo di pecora. Per sei antibiotici è stato stimato il cut-off epidemiologico (ECV) per valutare la pressione selettiva operata dall'utilizzo delle sostanze antimicrobiche nel trattamento delle patologie in allevamento. Da 47 allevamenti ovis da latte è stato prelevato un campione di latte di massa refrigerato. La ricerca degli Stafilococchi Coagulasi Positivi (SCP) è stata effettuata secondo la norma ISO 16888-1:2018. Sugli isolati, preliminarmente identificati come SCP è stata eseguita l'identificazione di specie mediante PCR. Sui ceppi confermati come SA sono state determinate le minime concentrazioni inibenti (MICs) per gli antibiotici Ampicillina (AM), Penicillina (P), Cefoxitin (FOX), Eritromicina (E), Vancomicina (VAN) e Tetraciclina (TE), mediante la tecnica delle micro diluizioni in brodo, in accordo ai protocolli del Clinical Standard Laboratory Institute (CLSI). Sugli isolati sono stati inoltre ricercati i rispettivi geni codificanti la resistenza mediante PCR: *mecA-C* e *blaZ* per AM, P e FOX, *ermA-B-C* per E, *vanA-B* per VAN e *tetK-M-S-W* per TE. Sulla base delle distribuzioni di frequenza delle MICs ottenute per ciascun antibiotico testato è stato calcolato l'ECV, mediante foglio di calcolo ECOFFinder (CLSI). L'ECV è stato utilizzato per differenziare i ceppi Wild Type (WT) e non Wild Type (non WT). Sono considerati WT i ceppi che non manifestano meccanismi di resistenza acquisiti agli antibiotici testati, mentre non WT quelli che presentano uno o più meccanismi di resistenza. La presenza di SCP è stata rilevata in 22 su 47 campioni (46,8%) di latte di massa di azienda. 63 ceppi sono stati identificati come SA e testati per valutare la resistenza agli antibiotici. Il 100% degli isolati ha mostrato sensibilità nei confronti degli antibiotici FOX e VAN e l'assenza dei corrispondenti geni di resistenza *mecA-C*, *vanA-B*. È stata invece rilevata resistenza singola nei confronti degli antibiotici AM e P in 3 (4,8%) e 4 (6,3%) ceppi rispettivamente. Un ceppo ha mostrato resistenza multipla agli antibiotici AM e P e la presenza del gene *blaZ*, mentre un ceppo è risultato contemporaneamente resistente a AM e TE e presentava i geni *blaZ* e *tetM*. Resistenza intermedia è stata inoltre evidenziata in 4 su 63 SA (6,3%) per TE e in 5 su 63 SA (7,9%) per E. L'ECV stimato era di 0,25 µg/mL per AM, P, VAN, E e TE e di 2 µg/mL per FOX. La percentuale di ceppi WT era di 74,6% per TE, 81% per VAN, 84,1% per E e 92,1% per AM,

P e FOX. La rilevazione di SA resistenti agli antibiotici rappresenta un pericolo per la salute pubblica per la potenziale diffusione di ceppi resistenti nella comunità. I risultati della presente ricerca mostrano una bassa prevalenza di ceppi di SA resistenti. L'utilizzazione del cut-off epidemiologico (ECV) fornisce evidenza di un ridotto utilizzo di sostanze ad azione antimicrobica nella filiera del latte ovino. La conduzione del monitoraggio dell'antibiotico resistenza supporta la valutazione del rischio lungo la filiera del latte ovino e consente di modulare il livello e l'intensità degli interventi di sorveglianza epidemiologica e farmaco vigilanza.

### C031

#### Enterococchi in campioni di latte ovino e bovino: caratterizzazione e antibiotico-resistenza

Marisa Palmeri<sup>1</sup>, Isabella Mancuso<sup>1</sup>, Luigi Arcuri<sup>2</sup>, Barreca Santino<sup>1</sup>, Barbaccia Pietro<sup>3</sup>, Luca Settanni<sup>3</sup>, Maria Luisa Scatassa<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo; <sup>2</sup>Azienda Sanitaria Provinciale 6, Palermo; <sup>3</sup>Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università di Palermo, Italia

Gli enterococchi, provenienti dall'ambiente di allevamento, si ritrovano nel latte dove possono svolgere un ruolo favorevole nella produzione di formaggi conferendo specifiche caratteristiche sensoriali. Il loro impiego in formulazioni starter è controverso, in quanto, al contrario degli altri batteri lattici, sono considerati "border line" relativamente allo status GRAS (Generally Recognized As Safe), un potenziale aspetto negativo per la salute umana è legato alla loro eventuale resistenza agli antibiotici. Scopo del lavoro è stato valutare la presenza di ceppi di *Enterococcus* spp. antibiotico-resistenti in campioni di latte ovino e bovino provenienti da allevamenti siciliani. Metodi: Lo studio è stato condotto su 15 allevamenti ovis e 3 bovini della Sicilia occidentale, sono stati prelevati campioni di latte di massa nel periodo produttivo dicembre - maggio su cui è stata condotta la ricerca di enterococchi su REA (Rapid *Enterococcus* Agar) incubato a 37°C per 48h. L'identificazione dei ceppi appartenenti al genere è stata verificata mediante PCR multiplex sul gene *sodA* utilizzando sei coppie di primers degenerati in tre diverse mix in grado di discriminare *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus* e *E. hirae*. La diversità genetica è stata stimata mediante l'analisi dei polimorfismi con la tecnica randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)-PCR e i profili RAPD sono stati analizzati con il software Gelcompare II versione 6.5. La valutazione della sensibilità agli antibiotici è stata effettuata con il metodo Kirby-Bauer su piastre di Mueller-Hinton Agar con il 5% di sangue di montone saggiando le seguenti molecole: Vancomicina 30 µg, Eritromicina 15µg, Penicillina 10 U.I., Tetraciclina 30µg, Ampicillina 10µg, Ciprofloxacina 5µg, Levofloxacina 5µg, Linezolid 30µg, Cloramfenicolo 30µg e Quinupristin-Dalfopristin 15µg come indicato dal Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018) e Rifampicina 30 µg, Gentamicina 120µg, Streptomina 10µg e Sulfametossazolo/Trimetropin 25 µg. Risultati: Nei campioni di latte di massa il contenuto in enterococchi oscillava fra 2 e 4 Log ufc/ml. I ceppi isolati sono risultati ascrivibili alle specie *E. faecalis* (28 ceppi), *E. faecium* (13 ceppi) e *E. durans* (9 ceppi). Fra i diversi enterococchi isolati, 38 hanno evidenziato profili polimorfici differenti e hanno manifestato resistenza antibiotica soprattutto nei confronti di Vancomicina, Quinupristin e Streptomina. Le maggiori sensibilità sono state nei confronti di Tetraciclina, Ampicillina,

Levofloxacin, Linezolid, Cloramfenicolo, Rifampicina e Trimetopim/Sulfametossazolo; sensibilità intermedia è stata rilevata vs Eritromicina, Ciprofloxacina e Gentamicina. Due ceppi hanno presentato multiresistenze, in particolare un ceppo di *E. durans* vs Vancomicina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Levofloxacin, Linezolid, Quinupristin, Streptomycin e Rifampicina e un ceppo di *E. faecalis* vs Vancomicina, Ciprofloxacina, Linezolid, Quinupristin, Streptomycin e Rifampicina. Conclusioni: Lo studio ha mostrato come il fenomeno della antibiotico-resistenza sia presente anche in realtà produttive a zootecnia non intensiva, prevalenti nella realtà siciliana. Sarà utile approfondire le ricerche rendendo partecipi dei risultati allevatori e veterinari responsabili dell'impiego del farmaco in allevamento.

### C032

#### **Multi-locus sequence typing e profilo di virulenza in stipti di *Bacillus cereus sensu lato* isolati da prodotti lattiero-caseari**

Angelica Bianco\*, Loredana Capozzi, Angela Miccolupo, Simona Iannetti, Maria Luisa Danzetta, Laura Del Sambro, Marta Caruso, Gianfranco Santagada, Antonio Parisi

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italia

*Bacillus cereus sensu lato* (*B. cereus s.l.*) è un batterio gram positivo, anaerobio facoltativo, che generalmente risiede nel terreno, nelle acque, nei vegetali e in differenti alimenti. L'ingestione di alimenti contaminati da parte dell'uomo può determinare un'infezione gastrointestinale tipicamente caratterizzata da due differenti manifestazioni: sindrome emetica e sindrome diarroica. Nel presente studio sono stati analizzati un totale di 90 ceppi di *B. cereus s.l.* isolati da prodotti lattiero-caseari. Lo scopo del progetto era la caratterizzazione genetica dei ceppi basata sulla definizione del Sequence Type (ST) e dalla identificazione del profilo genetico dei fattori di virulenza. Il DNA genomico è stato purificato mediante il kit DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, Hilden, Germany), secondo le procedure della casa produttrice. La metodica Multi-Locus Sequence Typing (MLST), come descritto altrove (<https://pubmlst.org/bcereus/info/primers.shtml>), è stata utilizzata al fine di valutare il profilo allelico di ciascun isolato necessario alla definizione del ST. La presenza di 11 geni codificanti fattori di virulenza è stata valutata mediante reazione a catena della polimerasi (PCR). Nello specifico, la porzione genica di 10 geni (hblA, hblC, hblD, nheA, nheB, nheC, cytK, entFM, entS e bceT) è stata amplificata e in caso di esito positivo, la stessa è stata sottoposta a sequenziamento mediante Genetic Analyzer ABI3130. Mentre, la presenza del gene *ces* codificante la tossina cereulide è stata valutata mediante *Real-Time* PCR, utilizzando un protocollo Sybr-Green. Le indagini condotte hanno permesso di identificare un totale di 38 differenti STs con una maggiore prevalenza del ST 1986 (13%). Del totale dei STs identificati, 17 (42%) riportavano un profilo allelico mai descritto in precedenza. Tutti i ceppi sono stati testati per la presenza di 11 fattori di virulenza, i quali codificano tossine e proteine associate al potere virulento esplicito dal batterio. Il 60% di tutti gli isolati analizzati possedeva i tre geni codificanti la enterotossina emolitica HBL; 82% degli isolati possedeva i geni codificanti per la enterotossina non emolitica NHE. I geni *entS*, *entFM*, *cytK*, *bceT* e *ces* risultavano presenti nel 92%, 86%, 72%, 65%, e 10% degli isolati, rispettivamente. L'identificazione di un numero elevato di STs evidenzia la diversità genetica dei ceppi di *B. cereus s.l.* iso-

lati nello studio presentato. Le analisi condotte dimostrano che la presenza di geni codificanti tossine rende i ceppi isolati potenzialmente patogeni. Questo dato risulta essere di rilevante interesse per la salute pubblica, in quanto si tratta di alimenti finiti e consumati generalmente senza cottura. Ne consegue che vi è la necessità di osservare delle corrette pratiche igieniche, sia da parte dei produttori del latte che delle aziende casearie, al fine di prevenire la contaminazione da *B. cereus s.l.* negli alimenti. In aggiunta, sarebbe opportuno attuare delle scrupolose misure di controllo della conservazione degli alimenti al fine di prevenire la moltiplicazione del microrganismo e la conseguente produzione di eventuali tossine negli stessi.

### C033

#### **Determinazione del tasso massimo di crescita di *Listeria monocytogenes* in ricotte salate ovine porzionate**

Anna Maria Mocchi<sup>1\*</sup>, Vincenzo Spanu<sup>1</sup>, Francesca Piras<sup>1</sup>, Carlo Spanu<sup>1</sup>, Kieran Jordan<sup>2</sup>, Mariella Demontis<sup>1</sup>, Enrico Pietro Luigi De Santis<sup>1</sup>, Christian Scarano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Settore Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Sassari, Italia; <sup>2</sup>Teagasc Food Research Centre, Moorepark, Fermoy Co. Cork. P61 C996, Ireland

La ricotta salata ovina prodotta in Sardegna è stata oggetto negli ultimi venti anni di numerosi casi di ritiro e richiamo a seguito di contaminazione da *Listeria monocytogenes*. La ricotta salata rappresenta tra i prodotti del caseificio ovino il prodotto a più alto rischio di contaminazione e sviluppo di *L. monocytogenes*. I fattori di rischio sono associati alle peculiarità del processo di produzione, degli ambienti di lavorazione, delle caratteristiche intrinseche del prodotto e delle modalità di conservazione. La ricotta salata è infatti caratterizzata da un processo di produzione che prevede diverse manipolazioni del prodotto successivamente all'affioramento che la espongono a contaminazioni secondarie. Negli ambienti di lavorazione sussistono condizioni ambientali, quali elevata umidità e basse temperature che favoriscono la persistenza di *Listeria monocytogenes*. La ricotta è un prodotto con una scarsa flora microbica competitiva e le caratteristiche di pH e di aW la rendono un prodotto particolarmente favorevole allo sviluppo dei microrganismi. *L. monocytogenes* ha un vantaggio competitivo nei confronti di altri contaminanti per la capacità di crescere a temperatura di refrigerazione e resistere a elevate concentrazioni di sale. Gli operatori del settore alimentare devono garantire il rispetto dei criteri microbiologici per tutto il periodo di conservabilità dei prodotti che immettono sul mercato. Lo scopo del presente studio è stato quello di determinare il tasso massimo di crescita di *Listeria monocytogenes* nella ricotta salata ovina porzionata al fine di acquisire dati scientifici utili per la determinazione della *shelf-life* in condizioni di abuso termico. Tre lotti di ricotta salata porzionata sono stati contaminati sperimentalmente con una miscela di ceppi di *Listeria monocytogenes* ed analizzati il giorno dell'inoculo (T0) e ogni 2 gg fino a 10 gg (T2, T4, T6, T8 e T10). La ricerca e la conta di *Listeria monocytogenes* sono state condotte secondo la norma ISO 11290-1/2:2017. Le conte ottenute sono state utilizzate per calcolare il tasso massimo di crescita ( $\mu_{max}$ ) utilizzando la funzione DMFit del software Combase, mentre la funzione ComBase Predictor è stata utilizzata per predire la curva di crescita sulla base delle caratteristiche del prodotto (pH, aW e NaCl%) e della temperatura di conservazione (Combase 2017). *L. monocytogenes* è cresciuta nel corso della conservazione a 8°C da livelli al T0 ( $\log_{10}$  cfu/g) di  $1,75 \pm 0,56$ , a



2,39±0,57 al T2, a 3,66±0,86 al T4, a 3,31±0,80 al T6, a 5,36±0,88 al T8 fino a 6,43±0,38 al T10. Il  $\mu_{max}$  ottenuto è stato di 0,02080±0,00256 log<sub>10</sub> cfu/h, equivalente a 0,49±0,08 log<sub>10</sub> cfu/giorno ( $r^2=0,821$  e lag fase stimata di 20,94 h). I valori della curva di crescita predittiva sono stati sovrapponibili con i dati sperimentali fino al T4, oltre il quale il software ha sovrastimato di circa 1.5 log<sub>10</sub> cfu/g la crescita del patogeno. I risultati del presente lavoro dimostrano che la ricotta salata è un substrato estremamente favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*. La *shelf-life* attribuibile sulla base del  $\mu_{max}$  stimato non può essere superiore ai 4gg, confermando le indicazioni del Regolamento 2073/2005. I software di microbiologia predittiva si dimostrano strumenti utili nelle fasi preliminari di definizione della *shelf-life*, tuttavia risulta fondamentale la conduzione di specifici challenge test sul prodotto nelle prevedibili condizioni di refrigerazione.

### C034

#### Indagine sul contenuto in ammine biogene nel Fiore Sardo DOP e relazioni con i parametri chimico-fisici e di composizione

Gavina Manca<sup>1</sup>, Antonio Ru<sup>1</sup>, Giuliana Siddi<sup>2</sup>, Anna Maria Mocchi<sup>2\*</sup>, Gavino Murittu<sup>3</sup>, Enrico Pietro Luigi De Santis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Economiche ed aziendali, Lab Commodity Science Technology and quality, Università degli Studi di Sassari; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Sassari; <sup>3</sup>Fili Pinna Spa, Thiesi (SS), Italia

Lo studio si propone di determinare il contenuto di ammine biogene (AB) ed amminoacidi liberi (AAL) in campioni di formaggio Fiore Sardo DOP prodotto in Sardegna e di valutare loro possibili relazioni con parametri chimico-fisici e di composizione. L'indagine è stata condotta su 37 campioni di formaggio Fiore Sardo DOP provenienti da 19 caseifici, prelevati nella fase di commercializzazione, prodotti nella stagione casearia 2017-18, con stagionatura non <8 mesi. La determinazione del contenuto in ammine biogene ed amminoacidi liberi è stata effettuata mediante cromatografia liquida HPLC previa derivatizzazione con Dansil-cloruro. Il pH è stato determinato con metodo potenziometrico, l'acqua libera (*aw*) mediante Aqualab 4TE (Decagon, Pullman, WA, USA); l'umidità, i grassi, le proteine, il NaCl ed il residuo secco mediante analisi NIT, con FoodScan (FOSS, Eden Prairie, MN, USA). Nei campioni di Fiore Sardo DOP i risultati (media±ds) mostrano un contenuto in ammine biogene pari a 127±87 mg/100g e in amminoacidi liberi di 2233±764 mg/100g, valori che evidenziano variabilità elevata. La tiramina, con 82±51 mg/100g, rappresenta circa il 60% del totale delle ammine biogene, seguita dalla putrescina con 21±26 mg/100g; cadaverina, istamina, β-fenilettilammina e triptamina sono rilevabili con contenuti medi inferiori a 10 mg/100g. In nessuno dei campioni sono rilevabili spermidina e spermina. I campioni presentano inoltre una discreta variabilità anche per i valori medi di *aw* (0,88±0,37), pH (5,1±0,2), umidità (28,7±3,8 g/100g), grasso (35,6±3,1 g/100g) e proteine (29,3±1,9 g/100g) ed NaCl (3,3±0,9 mg/100g). Dall'analisi di correlazione di Pearson risulta che le ammine biogene sono significativamente correlate agli amminoacidi liberi ( $p<0,01$ ), considerato come indice di proteolisi. Come evidenziato in precedenti lavori condotti sia su formaggi sardi tipici che su altri prodotti artigianali italiani, la disponibilità di amminoacidi liberi sono uno dei principali fattori che favoriscono la formazione ed accumulo di AB. Si rileva che il pH è correlato positivamente ( $p<0,01$ ) ad AB e AAL, mentre il contenuto in sale, umidità ed *aw*

non presenta correlazione significativa con questi composti azotati. L'elaborazione dei risultati mediante l'analisi delle componenti principali consente di evidenziare la ripartizione dei campioni in 4 gruppi. I gruppi A e B, composti da 5 campioni ciascuno, presentano il contenuto in ammine biogene (223±69 e 257±79mg/100g) ed in amminoacidi liberi (3133±695 e 3006±174 mg/100g) più elevato, analogamente a quanto osservato per il valore del pH (5,43±0,78 e 5,20±0,70); i due gruppi mostrano contenuto in NaCl (2,15±0,42 e 3,43±0,31 mg/100g) e valori di *aw* (0,91±0,12 e 0,85±0,19) sensibilmente differenti fra loro. I gruppi B e C, composti rispettivamente da 15 e 10 campioni, hanno un contenuto ammine biogene rispettivamente di 74±47 e 98±38 mg/100 mg. I gruppi B e C differiscono tra loro essenzialmente per il contenuto in sale (rispettivamente pari a 2,76±0,43 e 4,37±0,31) e per i valori di *aw* (0,90±0,18 e 0,85±0,16). I campioni di Fiore Sardo analizzati mostrano caratteristiche di composizione proprie di formaggi con maturazione prolungata, elevata variabilità del contenuto in ammine biogene e degli amminoacidi liberi. In parte dei campioni si rileva un contenuto in tiramina elevato, tale da rappresentare un rischio concreto per le categorie di consumatori particolarmente sensibili.

## Il Sessione

### C035

#### Valutazione dei fattori che concorrono alla definizione del coefficiente di concentrazione dell'aflatossina M1 nei formaggi

Rossana Roila<sup>1\*</sup>, Raffaella Branciarì<sup>1</sup>, Ivan Pecorelli<sup>2</sup>, David Ranucci<sup>1</sup>, Andrea Valiani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Italia

Scopo: Le aflatossine sono metaboliti secondari, tossici per gli animali superiori, prodotti da funghi del genere *Aspergillus*. Questi contaminanti possono essere presenti nei foraggi e mangimi ad uso animale ed anche in alimenti quali frutta a guscio, frutta secca, spezie, a seguito di contaminazioni fungine avvenute prima e dopo la raccolta. L'esposizione dell'uomo a tali tossine, tramite il consumo di alimenti, deve essere il più possibile limitata a causa della loro comprovata attività genotossica e cancerogena. Tra le aflatossine oggi conosciute, la B1 (AFB1) è la più diffusa nei prodotti alimentari e tra le più potenti in termini di genotossicità e cancerogenicità. L'aflatossina M1 (AFM1), metabolita idrossilato dell'AFB1, può essere ritrovata nel latte di animali alimentati con mangimi contaminati. L'Agenzia Internazionale per la Ricerca contro il Cancro (IARC) ha recentemente rivalutato la tossicità dell'AFM1 spostandola dal Gruppo 2B (possibili cancerogeni per l'uomo) al Gruppo 1 classificandola quindi come cancerogeno certo per l'uomo. Per il controllo di questo contaminante, al fine di tutelare la salute dei consumatori, l'UE ha introdotto un tenore massimo di AFM1 nel latte pari a 0.050 µg/kg (Reg. 1881/2006); mentre nessun limite è stato stabilito per la presenza di questa tossina nei prodotti lattiero caseari, nei quali durante le fasi del processo produttivo la stessa si concentra. Per quanto riguarda i formaggi, ad oggi è in essere l'obbligo per l'operatore del settore alimentare, in base all'art. 2 dello suddetto Reg., di fornire coefficienti specifici di concentrazione (CC) corroborati da opportune evidenze. In assenza di specifici CC il Ministero della Salute si è espresso più volte riguardo i tenori massimi di AFM1 nei formaggi. Il Ministero con parere del Comitato Nazionale della Sicurezza Alimentare n. 13 del 10/06/2013, ha raccomandato l'adozione in via provvisoria dei seguenti CC: 3.0 per i formaggi a pasta tenera e prodotti del siero; 5.5 per i formaggi a pasta dura. In una successiva nota (DGISAN del 21/11/2017) il Ministero della Salute ha incluso nei "formaggi a pasta tenera" i formaggi categorizzati, secondo la Decisione della Commissione 18 dicembre 1996, come formaggi a pasta molle e semi-molle e nei "formaggi a pasta dura" le categorie di formaggi a pasta semi-dura, dura ed extra-dura. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare i fattori coinvolti nella determinazione del CC dell'AFM1 nei formaggi considerando la categoria di durezza. Risultati e Conclusioni: In letteratura numerosi sono gli studi che hanno come oggetto la definizione di CC per diverse tipologie di formaggi e da questi si evince come i CC possano variare notevolmente anche all'interno della stessa categoria. Lo studio condotto ha evidenziato che la categorizzazione dei formaggi definita nella sopracitata nota del Ministero della Salute sulla base della durezza degli stessi, non è sufficiente come unico criterio per l'attribuzione di uno specifico CC. Nell'ambito della stessa categoria di formaggi, ottenuti anche mediante processi produttivi similari, è necessario quindi considerare la qualità compositiva della materia prima (con-

tenuto in grasso e proteine del latte) tra i fattori che concorrono a determinare il coefficiente di concentrazione.

### C036

#### Efficacia del controllo ufficiale mediante audit nei caseifici del territorio dell'ASL T04

Maria Natalia Mossi<sup>1\*</sup>, Luca Nicolandi<sup>2</sup>, Francesco Chiesa<sup>1</sup>, Pierluigi Di Ciccio<sup>1</sup>, Daniele Nucera<sup>3</sup>, Tiziana Civera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino; <sup>2</sup>ASLTO 4; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Italia

La ricerca si è proposta di valutare le ricadute dell'attività di *audit* sul miglioramento della gestione igienico sanitaria in un campione di aziende lattiero-casearie site sul territorio dell'ASL T04. Lo studio, che ha analizzato i dati raccolti con checklist e verbali di *audit*, ha cercato di individuare quali campi oggetto di *audit* fossero maggiormente responsabili di tale miglioramento e quale correlazione ci fosse tra i punteggi ottenuti in sede di *audit* e quelli assegnati dal Servizio Veterinario dell'ASL in base alla categoria di rischio degli stabilimenti. Il campione esaminato è costituito da 22 aziende riconosciute ai sensi del Reg. 853/2004 del settore lattiero-caseario, sottoposte ad *audit* almeno due volte nel periodo tra il 2010 e il 2015. A partire dai rapporti di *audit*, è stato attribuito un punteggio ai parametri valutati, a seguito di un loro giudizio conforme o meno rispetto alle normative di riferimento. Tali parametri sono stati raggruppati all'interno di un'apposita *check-list* ed è stato altresì attribuito un valore numerico (*score*) a ciascuna voce delle diverse sezioni della stessa, in base alla capacità di influenzare il livello di pericolo per la sicurezza alimentare. In particolare, tali valori numerici sono ripresi da quelli utilizzati dal Servizio Veterinario in sede di attribuzione della categoria di rischio. Moltiplicando il punteggio assegnato ai parametri per lo *score* della relativa sezione della checklist e poi sommando tra loro i valori ottenuti, si è ricavato anche il punteggio globale di *audit*. Per ciascun caseificio è inoltre stata riportata la relativa classificazione in base alla categoria di rischio. I dati raccolti sono stati analizzati tramite i test di Wilcoxon Signed Rank e di Kruskal-Wallis e tramite statistica descrittiva. L'analisi dei dati ha permesso di evidenziare un miglioramento del punteggio globale tra il primo e il secondo *audit*. Particolarmente determinanti nella variazione del risultato finale sono risultate essere le sezioni "strutture", "prerequisiti materia prima e ingredienti" e "piano di autocontrollo", al cui interno sono declinati più punti di attenzione, come lo stato e le procedure di pulizia e manutenzione dei locali di lavorazione, i referti dei piani di campionamento sulle materie prime (in particolare latte e acqua) e il controllo degli infestanti e dei pericoli chimici, fisici e microbiologici. Sono migliorati nel tempo anche i punteggi attribuiti alla classe di rischio, ma non è stata dimostrata una correlazione diretta tra questi ultimi e i risultati ottenuti in sede di *audit*. Dalla statistica descrittiva emerge però che a valori di *audit* più bassi corrispondono categorie di rischio più basse e viceversa. Nel contesto dei caseifici, l'*audit* risulta essere una tecnica di controllo ufficiale effettivamente efficace nel migliorare le caratteristiche di conformità alla normativa, come dimostrano anche altri studi nello stesso settore. Non è possibile tuttavia legare il miglioramento della gestione del processo con un effettivo miglioramento della sicurezza del prodotto, in considerazione della sostanziale stabilità degli episodi di malattia alimentare in Europa e si dovranno individuare ulteriori strategie per garantire il raggiungimento dell'Appropriate Level of Protection (ALOP).

## C037

**Presenza di principi attivi ad attività antimicrobica nel miele pugliese: probabile "inquinamento antibiotico ambientale"**

Elisabetta Bonerba<sup>1\*</sup>, Roberta Barrasso<sup>1</sup>, Edmondo Ceci<sup>1</sup>,  
Alessandra Emilia Savarino<sup>1</sup>, Sara Panseri<sup>2</sup>, Luca Chiesa<sup>2</sup>,  
Valentina Terio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare-VESPA dell'Università di Milano, Italia

Per la peculiare flora nettarifera presente sul territorio pugliese, la produzione di miele assume un ruolo di rilievo ma necessita ancora di una pertinente valutazione di filiera dell'intrinseca qualità funzionale e sanitaria. In UE le api sono considerate animali produttori di alimenti e i prodotti dell'alveare devono rispettare la legislazione cogente anche per i residui di molecole farmacologicamente attive. In Europa per la maggior parte degli antimicrobici non risultano definiti i limiti massimi di residui (LMR) nel miele, ed in Italia il parere del Consiglio Superiore di Sanità del 13/02/08 ha fissato le concentrazioni o limiti di rilevabilità solo per: Sulfamidici, Tetracicline, Streptomina, e Tilosina. I controlli ufficiali nel miele in Italia, ai sensi del Piano Nazionale Residui (PNR), sono orientati verso la ricerca di cloramfenicolo, metaboliti dei nitrofurani, nitroimidazoli, tetracicline, sulfamidici, amminoglicosidi e macrolidi, con la finalità di svelarne l'utilizzo illecito in apicoltura. Alle api viene attribuito il ruolo di bioindicatore poichè interagendo intimamente con l'ambiente, prelevando nettare, polline, melata e propoli da fiori e piante, raccogliendo acqua da risorse idriche superficiali e dalla guttazione fogliare ed entrando in contatto con le sostanze aerodisperse, rappresentano una fonte di informazione preziosa per comprendere la qualità dell'ambiente in cui vivono. In questo contesto si sono inseriti gli obiettivi di un Progetto di Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura del Dipartimento di Medicina Veterinaria dal titolo: Ape e Ambiente: Biomonitoraggio e Valorizzazione dei Prodotti dell'alveare Pugliesi, nel quale il monitoraggio ambientale, operato attraverso l'allocazione di 15 arnie poste in 5 zone geografiche della Provincia di Bari, è rivolto alla raccolta di dati analitici su fitofarmaci, farmaci e contaminanti ambientali. Obiettivo del presente lavoro è la ricerca di diverse classi di antibiotici nel miele di nido prelevato dalle 15 arnie sopra indicate e presso le 10 arnie dell'apiario sperimentale del Dipartimento, in due periodi successivi di bottinamento (primavera ed estate) del 2018, al fine di comprendere se il fenomeno noto come "inquinamento antibiotico ambientale" possa avere ripercussioni dirette in questa filiera. Le indagini di screening sono state effettuate con una innovativa tecnica analitica che si avvale del Biochip Randox "Evidence Investigator"™ mediante l'impiego dei kit analitici Anti-Microbial Array II e IV, che consente di rivelare, rispettivamente, la presenza nel miele di ceftiofur, chinoloni, streptomina, tilosina, tiamfenicolo, tetracicline e spiramicina/iosamicina, apramicina, bacitracina, neomicina/paromomicina, tobramicina, tilosina B/tilmicosina, spectinomina, amikacina/Kanamicina, lincosamidi, eritromicina, streptomina/diidrostreptomina e virginamicina. I risultati preliminari ottenuti, in attesa di conferma in LC-MS/MS, hanno mostrato la presenza di molecole appartenenti a classi di antibiotici che non vengono impiegati in apicoltura, anche per l'elevato costo e le difficili modalità di somministrazione: ceftiofur, chinoloni, tobramicina, apramicina e streptomina presentano le concentrazioni più elevate (>10 ppb). Considerate le attività zootecniche pugliesi che insistono negli stessi territori in cui sono stati

allocati gli apiari è, quindi, possibile che le api siano accidentalmente venute in contatto con queste molecole riportando negli alveari, e di conseguenza nel miele, quantitativi rilevabili delle molecole ricercate.

## C038

**Mieli biologici e sicurezza alimentare: distribuzione di contaminanti organici persistenti, pesticidi e residui di antibiotici da aree produttive caratterizzate da diverse fonti di contaminazione**

Maria Nobile<sup>1\*</sup>, Sara Panseri<sup>1</sup>, Marta Castrica<sup>1</sup>, Claudia Balzaretto<sup>1</sup>,  
Francesco Arioli<sup>1</sup>, Elisabetta Bonerba<sup>2</sup>, Giuseppina Tantillo<sup>3</sup>,  
Luca Chiesa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare-VESPA dell'Università di Milano; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari; <sup>3</sup>Dipartimento Interdisciplinare di Medicina dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia

Il miele è un prodotto alimentare naturale, composto da nettare, secrezioni di parti di piante o escrementi di insetti, che le api Apis mellifera raccolgono, trasformano combinandole con sostanze specifiche e depositano nei favi. Oggi, l'interesse dei consumatori per quanto riguarda il miele e i suoi prodotti derivati è orientato verso gli alimenti biologici. A tale riguardo, la Commissione europea stabilisce che la qualifica di miele biologico e altri prodotti di apicoltura è strettamente legata alle caratteristiche dei trattamenti alveari e alla qualità dell'ambiente. Le fonti di contaminazione del miele possono essere suddivise in fattori ambientali (metalli pesanti come piombo, inquinanti organici, pesticidi, ecc.) o legati alle pratiche di apicoltura (acaricidi, antibiotici, ecc.). Nel primo caso la contaminazione può raggiungere l'alveare attraverso l'aria, l'acqua e il suolo per mezzo delle api, mentre nel secondo, gli apicoltori usano gli antibiotici direttamente sull'alveare per combattere alcune malattie. Lo scopo della ricerca era di indagare la presenza di pesticidi, inquinanti organici persistenti e antibiotici nei mieli organici raccolti da diverse aree produttive in base alle loro caratteristiche (area con impatto agricolo, zootecnico o antropico) per confermare il potenziale trasferimento di xenobiotici derivanti da fonti diverse rispetto alle pratiche di apicoltura. Sessanta campioni di miele biologico provenienti da sei diverse aree sono stati raccolti dagli apicoltori durante la primavera-estate 2018. Le aree investigate sono state identificate come segue: Alto impatto antropico (HA) comprendente campioni di alveari situati vicino a grandi centri abitati, con un'importante attività industriale, presenza di svincoli autostradali e alta densità di popolazione; Basso impatto antropico (LA) caratterizzate dalla presenza di vegetazione boschiva, dall'assenza di grandi attività industriali e dalla presenza di modeste reti stradali. Area agricola intensiva (IF) comprendente tutte le aree in cui l'attività principale era l'agricoltura. In particolare sono state evidenziate colture cerealicole, frutteti, vigneti e serre; Aree di allevamento intensivo (IH) caratterizzate dalla presenza di allevamenti di bestiame, polli, cavalli e anche di allevamenti ittici; Aree agricole e zootecniche (FH) comprendenti aree con caratteristiche intermedie rispetto alle due precedenti. I risultati hanno mostrato alcune peculiarità. In particolare, nella zona agricola sono stati trovati pesticidi organoclorurati e organofosforati, come ci aspettavamo, confermando che la contaminazione potrebbe essere legata all'area. L'area di allevamento ha dimostrato di essere libera da ogni tipo di contaminazione. La presenza di diversi composti, come policlorobifenili

(PCB), difenileteri polibromurati (PBDE) e idrocarburi policiclici aromatici (IPA) è stata confermata, non solo in prossimità di centri altamente urbanizzati, dove le concentrazioni erano più elevate, ma in tutti i contesti ambientali, confermando la teoria che al giorno d'oggi i PCB sono contaminanti onnipresenti. Non sono stati rilevati antibiotici e neonicotinoidi nei 60 mieli biologici, a dimostrazione dell'assenza di trattamenti apistici e di conseguenza della buona qualità del miele di diverse aree. Questi risultati sono importanti a causa della non definita normativa europea sui limiti degli antibiotici nel miele. Questo approccio potrebbe essere particolarmente utile per fornire agli apicoltori strumenti per la selezione di aree dedicate alla produzione, in particolare per quelle biologiche.

### C039

#### COMUNICAZIONE RITIRATA

### C040

#### Presenza e caratterizzazione di *Arcobacter* spp. in ortaggi di IV gamma prodotti in Italia meridionale

Anna Mottola<sup>1\*</sup>, Giuseppina Ciccarese<sup>2</sup>, Carla Sinisi<sup>2</sup>, Alessandra Emilia Savarino<sup>1</sup>, Patrizia Marchetti<sup>1</sup>, Valentina Terio<sup>1</sup>, Giuseppina Tantillo<sup>3</sup>, Roberta Barrasso<sup>1</sup>, Angela Di Pinto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Campi Salentina (LE); <sup>3</sup>Dipartimento Interdisciplinare di Medicina dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari Italia

Le informazioni disponibili in letteratura relative alla presenza di *Arcobacter* spp. negli alimenti di origine vegetale sono attualmente carenti. Ampiamente documentato è, tuttavia, il ruolo assunto da tali alimenti nel determinismo di malattie a trasmissione alimentare. Obiettivo del presente studio è, pertanto, acquisire dati relativi alla presenza di *Arcobacter* spp. negli ortaggi *ready-to-eat* (RTE), evidenziare specifici tratti di virulenza e genotipizzare gli isolati, per implementare e attuare una mirata valutazione e relativa gestione del rischio microbiologico. Nell'ambito del presente lavoro sono stati considerati ortaggi RTE e, specificatamente, 56 campioni di lattuga e 54 campioni di rucola, provenienti da uno stabilimento di ortaggi di IV gamma sito nella regione Puglia. Il percorso sperimentale ha previsto, inizialmente, l'isolamento colturale di *Arcobacter* spp., effettuato su terreno solido specifico. Le colonie, isolate come appartenenti presumibilmente ad *Arcobacter* spp., sono state, quindi, identificate tramite Multiplex-PCR e sequenziamento del gene *rpoB*. Gli isolati, successivamente, sono stati caratterizzati in base alla presenza di specifici fattori di virulenza e, infine, genotipizzati mediante Multi-Locus Sequence Type (MLST). L'isolamento colturale ha rilevato la presenza di *Arcobacter* spp. in 16/110 (14.5%) ortaggi RTE e, in particolar modo, in 11 campioni di lattuga e 5 campioni di rucola. Dall'analisi biomolecolare effettuata sui 16 isolati, 15 sono risultati appartenere alla specie *A. butzleri* e 1 alla specie *A. cryaerophilus*. Sono stati inoltre rilevati specifici tratti di patogenicità diversamente distribuiti nei 16 isolati. La genotipizzazione eseguita mediante MLST ha evidenziato la presenza di soltanto 6 Sequence Type (STs) e, quindi, una esigua variabilità genetica, attribuibile probabilmente all'origine univoca dei campioni considerati. Lo studio conferma la presenza di *Arcobacter* spp. negli ortaggi RTE, imputabile principalmente alla contaminazione della materia prima e sollecita l'applicazione di appropriate e corrette pratiche agronomiche. L'impiego di fertilizzanti, quali letame e liqua-

me non correttamente trattati, infatti, è la principale causa di contaminazione microbiologica dei vegetali. Inoltre l'individuazione di specifici fattori di virulenza e la genotipizzazione molecolare di *A. butzleri* e *A. cryaerophilus*, possibili responsabili di gastroenterite ad eziologia ignota, evidenziano la necessità di introdurre un sistema di sorveglianza basato sulla caratterizzazione biomolecolare per una integrata valutazione del rischio microbiologico degli ortaggi RTE, per implementare un innovativo controllo della filiera e, conseguentemente, degli alimenti composti.

### C041

#### Sperimentazione su robiola esposta per la vendita in banchi frigo della grande distribuzione

Nicoletta Vitale<sup>1\*</sup>, Annalisa Costa<sup>2</sup>, Daniela Manila Bianchi<sup>2</sup>, Lucia Decastelli<sup>2</sup>, Gabriele Bono<sup>2</sup>, Antonio Barbaro<sup>1</sup>, Annamaria Galleggiante<sup>1</sup>, Laura Chiavacci<sup>1</sup>, Maria Mancini<sup>3</sup>, Luigi Lanni<sup>4</sup>, Elisa Goffredo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Osservatorio Epidemiologico, Istituto Zooprofilattico sperimentale del Piemonte, Liguria, Valle d'Aosta, Torino; <sup>2</sup>Controllo Alimenti, Istituto Zooprofilattico sperimentale del Piemonte, Liguria, Valle d'Aosta, Torino; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia; <sup>4</sup>Istituto Zooprofilattico sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma, Italia

Per valutare gli effetti delle fluttuazioni di temperatura su prodotti da conservare a temperatura controllata in fase di distribuzione è stato condotto uno studio su confezioni di robiola presso un esercizio commerciale. Sono state selezionate dal banco frigo, settato a 2°C, 9 confezioni di robiola al fine di condurre lo studio sperimentale fino al termine della *shelf-life*. Tutte le confezioni erano dotate di etichetta con le informazioni sulla sperimentazione e di adesivo antitaccheggio. Tre confezioni sono state munite di *data-logger* per la registrazione della temperatura ogni 15 minuti. All'interno degli scaffali i prodotti sono stati posizionati in modo da rispettare tutta la lunghezza/profondità del cabinet di tipo chiuso (sportelli). Tre confezioni sono state prelevate a 30 giorni dalla data di scadenza (t0 - inizio sperimentazione), 3 confezioni a metà della sperimentazione (t1 - 15 giorni dalla scadenza) e le ultime 3 confezioni, quelle provviste di *data-logger* a fine sperimentazione (t2 - 2 giorni dalla scadenza). Su tutte le confezioni prelevate sono state effettuate le seguenti prove analitiche: pH, aw, Carica Mesofila Totale 30°C, Carica Psicofila Totale a 22°C, *Enterobacteriaceae*, Lieviti e Muffe, Stafilococchi coagulasi-positivi. La relazione tra temperatura e cariche batteriche è stato valutato tramite un modello di analisi della varianza. La temperatura media di mandata rilevata nel periodo di osservazione è di 2.6°C (±1.7), mentre la temperatura media rilevata nel prodotto è risultata essere di 2.5°C (±0.7) per la confezione posta davanti 2.4°C (±0.7), 2.6°C (±0.7) la confezione posta dietro e di 3.2°C (±0.8) per quella intermedia. All'analisi della varianza la posizione della sonda è risultata statisticamente significativa (p<0.001). Il valore medio della Carica Mesofila Totale è risultato pari a 4.99 Log<sub>10</sub> UFC/gr al primo controllo effettuato a 30 giorni dalla scadenza a t0. Il controllo successivo a t1 è risultato 4.95 Log<sub>10</sub> UFC/gr, mentre il controllo effettuato a t2 è risultato 5.08 Log<sub>10</sub> UFC/gr. La carica batterica psicofila a 22°C effettuata in parallelo è risultata rispettivamente pari a 4.94 Log<sub>10</sub> UFC/gr, 4.86 Log<sub>10</sub> UFC/gr, 1.36 Log<sub>10</sub> UFC/gr. Il valore di pH e di aw, di seguito riportati sono stati ottenuti dalla media delle 3 uc; il pH è risultato rispettivamente pari a t0=4.7, t1=4.7 e t3=4.6. Infine l'aw è risultato rispettivamente pari a 0.990, 0.995, 0.994. *Enterobacteriaceae*, Lieviti e Muffe e Stafilococchi coagulasi-positivi sono risultati sempre inferiori a 10 UCF/gr. Le popolazioni relative alla carica batterica mesofila sono rimaste pressoché costanti nel corso della sperimentazione, risultato



in linea con quanto atteso, visto che le temperature osservate sono poco permissive anche per la crescita dei batteri psicrofili.

## C042

### Attività antimicrobica di composti stilbenici di sintesi chimica

Giacomo Rovelli<sup>1</sup>, Luce Mattio<sup>2</sup>, Andrea Pinto<sup>2</sup>, Sabrina Dallavalle<sup>2</sup>, Marcello Iriti<sup>3</sup>, Lisa Vallone<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze e Biotechnologie Agrarie, Alimentari e Ambientali - Università degli Studi di Perugia; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università degli Studi di Milano; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano; <sup>4</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare Università degli Studi di Milano, Italia

Lo scopo del lavoro è verificare il potere inibente, *in vitro*, di composti stilbenici nei confronti di microrganismi, muffe e lieviti isolati dall'ambiente e da alimenti di origine animale. Per ottemperare allo scopo prefissato, otto ceppi batterici, *S. tiphimurium*, *L. innocua*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *E. fecalis*, *S. marcenscens*, 16 ceppi fungini, *P. roqueforti*, *P. italicum*, *P. expansum*, *A. terreus*, *A. niger*, *A. flavus* (A), *A. flavus* (B), *A. ochraceus*, *B. cinerea*, *F. graminearum*, *F. verticilloides*, *B. nivea*, *M. circinelloides*, *R. nigricans*, *G. candidum*, *A. alternata* e tre ceppi di lieviti, *M. pachydermatis*, *C. parapsilosis*, *C. albicans* sono stati messi a contatto con otto composti stilbenici (sintetizzati in laboratorio), delta-viniferina, eta-vini-

ferina, Lux 27, Lux 18, picetannolo, pallidolo, pterostilbene e resveratrolo. Come controllo sui composti stilbenici è stata utilizzata gentamicina per il test sui batteri, ciclopirolo olamina (Batrafen) e tebuconazolo per il test sui miceti. La biocompetizione di ciascun composto su ogni singolo microrganismo è stata testata *in vitro* su terreno PCA (Plate Count Agar) e terreno Sabouraud con l'ausilio di dischetti di carta bibula. L'effetto biocompetitivo è stato valutato misurando gli aloni di inibizione generati dalla copresenza sul terreno di coltura dei composti naturali e dei microrganismi. Come atteso, per quanto riguarda i ceppi batterici, l'efficacia dei composti naturali è risultata diversa a seconda del batterio, se Gram+ o Gram-, quindi a seconda della composizione e della struttura della parete batterica. In particolare, hanno dato risultati positivi, finalizzati allo scopo della ricerca: eta-viniferina, pterostilbene e resveratrolo. Non si sono dimostrati altrettanto efficaci delta-viniferina, eta-viniferina, Lux 27, pallidolo e picetannolo. Per quanto riguarda i miceti, nell'ambito di questa prova, si sono rivelati inefficaci resveratrolo e pterostilbene, contrariamente a picetannolo che invece è stato in grado di inibire lo sviluppo di alcuni ceppi fungini. Sebbene non tutti gli stilbeni testati si siano rivelati utili nel contrastare lo sviluppo batterico e/o fungino, in seguito ad ulteriori approfondimenti legati alla valutazione dell'azione biocida e/o biostatica, alla formula di struttura di questi composti (la presenza o meno di gruppi sostituenti sullo scheletro della molecola potrebbe farne variare l'attività biologica), si auspica l'impiego di tali sostanze in ambito veterinario-zootecnico e nel contesto della sicurezza igienico-sanitaria della filiera alimentare. Infatti, le sostanze di origine naturale sono meno dannose per la salute dell'animale e dell'uomo, oltre a ridurre il rischio di selezionare ceppi di microrganismi resistenti in virtù del loro meccanismo d'azione multisito.



## IL COINVOLGIMENTO DEL MEDICO VETERINARIO IGIENISTA NEL CONTESTO ONE HEALTH

11 - 12 - 13 SETTEMBRE 2019 | PALAZZO ATENEI, SALONE DEGLI AFFRESCHI - BARI



### SESSIONE POSTER

#### P001

##### **Sviluppo di tecnologia loop-mediated isothermal amplification per la determinazione di *V. vulnificus*. Dati preliminari**

Luna Lorito<sup>\*1</sup>, Giorgia Bignami<sup>1</sup>, Emanuele Zavatta<sup>1</sup>,  
Giorgia Caruso<sup>2</sup>, Patrizia Serratore<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna;

<sup>2</sup>Enbiotech s.r.l., Palermo, Italia

*Vibrio vulnificus* è un bacillo GRAM negativo, autoctono marino, con rilevante potenziale zoonotico sia per ingestione che per contatto, in particolare in individui con grave compromissione del sistema immunitario, nei quali l'infezione può esitare in setticemia. Epidemiologicamente *V. vulnificus* è considerato un patogeno a bassa morbilità, ma alta mortalità, in quanto l'infezione colpisce pochi individui, ma nei soggetti predisposti la setticemia può determinare 50% di mortalità per ingestione e 25% per contatto con ferite. *V. vulnificus* non è considerato fra i criteri di sicurezza nel Reg. CE 2073/2005 ss.mm.ii., ma data la sua pericolosità, vi è necessità di sviluppare metodi affidabili e rapidi per consentire l'adozione di adeguate misure in sede di autocontrollo, particolarmente nella filiera dei molluschi bivalvi, alimenti consumati spesso crudi o poco cotti. Il presente studio riguarda i dati preliminari ottenuti attraverso una collaborazione tra il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie (DIMEVET) ed Enbiotech s.r.l., azienda che ha sviluppato un sistema diagnostico molecolare portatile, basato sulla tecnologia Loop-mediated-isothermal-Amplification (LAMP). In totale sono stati eseguiti 16 cicli di prove sul sistema, utilizzando ceppi batterici appartenenti alla collezione del DIMEVET, e provenienti da collezioni internazionali, nonché isolati di campo già caratterizzati sul piano fenotipico-funzionale e genomico. Il sistema diagnostico utilizzato si compone di uno strumento (ICGENE-mini) e i kit diagnostici contenenti tutti i componenti necessari pronti all'uso, ed è stato sviluppato per permettere una rapida estrazione degli acidi nucleici dal campione, amplificazione genomica basata sulla tecnologia LAMP, nonché lettura della fluorescenza emessa e interpretazione automatica del risultato finale. Il protocollo di estrazione è stato condotto a due condizioni: 1) temperatura ambiente per 10 minuti, 500 µl di buffer; 2) 85°C per 10 minuti, 200 µl di buffer (formulazione Glow), utilizzando un set di primer basati sulla sequenza del gene rpoB. Per ogni test i ceppi selezionati, conservati a -80°C in brodo triptone (1%)+glicerolo (20%), sono stati scongelati e rivitalizzati, nonché ritestati per confermare purezza e caratteristiche fenotipiche base (colonie blu-verdi su CHROMagar Vibrio, citocromoossidasi positive, in grado di ridurre i nitrati, sensibili al vibriostatico O129/150µg) e molecolari con tecnica Polymerase Chain Reaction (PCR) relativa al marcatore di specie vvhA. Il protocollo di estrazione 1 ha evidenziato falsi positivi (*E. coli*) in due prove e falsi negativi in una prova. Il proto-

collo di estrazione 2 è stato applicato in 5 cicli di prove di inclusività e 4 di esclusività utilizzando 73 ceppi batterici tra i quali rispettivamente 43 *V. vulnificus* e 30 di altre specie del genere *Vibrio* e altri generi batterici. A tali condizioni non si sono evidenziati falsi positivi e falsi negativi. Lo studio ha dimostrato che il sistema portatile ICGENE, testato con protocollo 2 per *V. vulnificus*, possiede una specificità e un'inclusività pari al 100%. Questo promettente risultato può motivare un prosieguo della ricerca al fine di determinare la sensibilità del sistema in termini di limite di detection (LOD) su matrice organica, dato fondamentale per riconoscere una concreta applicabilità in campo, e quindi l'utilizzabilità da parte degli operatori del settore alimentare.

#### P002

##### **Metodologie innovative per l'identificazione di carni separate meccanicamente: le tre tecniche sviluppate dal progetto "MPSQA"**

Marco Iammarino<sup>1\*</sup>, Rogerta Dalipi<sup>2</sup>, Emanuele Sangiorgi<sup>2</sup>,  
Michele Tomaiuolo<sup>1</sup>, Michele Mangiacotti<sup>1</sup>, Oto Miedico<sup>1</sup>,  
Antonio Eugenio Chiaravalle<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro di riferimento nazionale per la ricerca della radioattività nel settore zootecnico-veterinario, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia; <sup>2</sup>Laboratorio di merceologia dei macrocomponenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia, Italia

Nel 2013 l'European Food Safety Authority (EFSA) ha sottolineato la necessità di individuare e classificare i parametri che possono essere utili per identificare tipi diversi di carni separate meccanicamente (CSM), così come per distinguerli dalla carne fresca e dalle preparazioni di carne. Da allora, numerosi studi hanno preso in considerazione svariati parametri, dalle proteine al ferro, dalle ceneri al colesterolo. Tra questi, solo la concentrazione in calcio sembra fornire indicazioni utili all'individuazione di una CSM. Si rendono tuttavia necessarie nuove tecniche di supporto, utili per l'identificazione certa di CSM nei vari prodotti a base carne. Nel presente studio sono stati sviluppati tre metodi innovativi per l'identificazione di CSM mediante tre tecniche alternative. Irraggiamento ed analisi in spettrometria ESR: Viene sfruttata la presenza di microframmenti ossei nelle CSM. Le ossa irradiate, infatti, sono caratterizzate da spettri ESR caratteristici, sfruttati anche da metodi normati per individuare carni irradiate contenenti ossa. Fluorescenza a raggi X a riflessione totale: tale tecnica consente di caratterizzare gli elementi chimici grazie all'analisi della radiazione X emessa in seguito ad eccitazione atomica ottenuta ad una specifica energia. I campioni sono stati analizzati mediante spettrometro con tubo a raggi X da 40 W con anodo al molibdeno e silicon-drift detector. Approccio multivariato Sr-90, Sr-88, Ca, ceneri: la presenza di frammenti ossei nelle CSM causa una maggiore concentrazione di alcuni elementi nel campione. In particolare, per la determinazione dell'isotopo

radioattivo Sr-90, è stata impiegata una tecnica ultra-sensibile accreditata presso il CRN "Radioattività". Gli elementi Sr-88 e Ca sono stati determinati mediante spettrometria ICP-MS. Irraggiamento ed analisi ESR: l'identificazione qualitativa delle CSM è stata possibile grazie al caratteristico segnale ESR generato dai frammenti ossei irradiati. L'analisi è stata applicata a campioni di carni avicole, suine e wurstel, ed è stato anche proposto un approccio utile per quantificare i frammenti ossei nel campione. Fluorescenza a raggi X a riflessione totale: l'analisi elementare ha confermato che i livelli di K, Ca e Fe sono significativi per distinguere le carni fresche dalle CSM, soprattutto se ottenute ad alte pressioni e nei prodotti con percentuali di CSM superiori al 40%. Approccio multivariato Sr-90, Sr-88, Ca, ceneri: mediante analisi di 100 campioni di varia tipologia, contenenti diverse percentuali di CSM e senza CSM, e successiva analisi multivariata, è stato valutato questo nuovo approccio. La presenza/assenza di CSM è stata valutata correttamente nell'87% dei casi. Tale risultato può essere considerato positivo nell'ottica di una ulteriore ottimizzazione dell'approccio statistico. Le tre tecniche sviluppate sono risultate idonee allo scopo, in quanto in grado di identificare, con buona precisione, CSM nei prodotti carnei. Le prove sono state effettuate sia su campioni preparati "in-house" a diverse percentuali di CSM che su campioni prelevati in commercio, facendo riferimento, in questo caso, alle indicazioni in etichetta. Le tre metodologie possono essere dunque considerate validi strumenti d'indagine a supporto dei laboratori preposti al controllo ufficiale degli alimenti.

Lavoro svolto grazie ai finanziamenti "Ricerca finalizzata 2013" del Ministero della Salute - Progetto GR-2013-02358862.

### P003

#### **Sviluppo e applicazione di un nuovo metodo analitico mediante HPLC/UV-DAD per i controlli sull'impiego dei coloranti nelle carni fresche e nei prodotti carnei**

Marco Iammarino<sup>1\*</sup>, Annalisa Mentana<sup>2</sup>, Diego Centonze<sup>2</sup>, Carmen Palermo<sup>2</sup>, Michele Mangiacotti<sup>1</sup>, Antonio Eugenio Chiaravalle<sup>1</sup>

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

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

Scopo: La problematica relativa all'impiego di coloranti nei prodotti a base di carne è molto complessa. La legislazione Europea consente l'aggiunta di soli tre coloranti nei prodotti carnei: Cocciniglia (E120), Ponceau 4R (E124) ed Allura Red AC (E129), con precise restrizioni riguardo le concentrazioni massime ammissibili, in quanto alcuni coloranti possono o potrebbero causare reazioni avverse sull'uomo, come nel caso del Cocciniglia, Ponceau 3R, Amaranth, ecc. Inoltre, la Commissione Europea nel 2013 ha evidenziato alcune lacune per quanto riguarda i metodi analitici standard, i monitoraggi sui prodotti in commercio ed altri aspetti legislativi, relative ai coloranti in diversi prodotti alimentari. Per quanto concerne le carni ed i prodotti carnei, sono davvero pochissimi i dati disponibili in letteratura riguardanti l'impiego di coloranti, e non sono disponibili metodi analitici in grado di determinare simultaneamente i più importanti coloranti, ammessi e non, che possono essere utilizzati, anche in modo fraudolento, nelle preparazioni di carne. In questo studio, un nuovo metodo analitico mediante HPLC/UV-DAD, è stato impiegato per valutare l'attuale impiego di tali additivi sia nelle preparazioni di carni che nei prodotti carnei. Il monitoraggio si è concluso con il contributo alla valutazione del rischio associato.

Metodi: È stato impiegato un nuovo metodo analitico mediante HPLC/UV-DAD, sviluppato e validato per la simultanea determinazione di 12 coloranti: Amaranth S, Ponceau 4R, Carmine, Ponceau SX, Ponceau 3R, Allura Red AC, Carmoisine, Erythrosine, Sudan I, Sudan II, Sudan III e Sudan IV, per monitorare l'impiego di tali additivi nelle preparazioni di carni fresche e nei prodotti carnei. 130 campioni (65 preparazioni di carni fresche e 65 prodotti carnei) sono stati prelevati presso esercizi commerciali locali e negozi online specializzati in salami "Spanish-type". Il monitoraggio ha consentito di valutare sia la tipologia che il livello di colorante impiegato nei vari prodotti, nonché eventuali "non conformità". L'indagine si è conclusa con il contributo alla valutazione del rischio associato. Risultati: Ponceau 4R e Carmine sono stati gli unici coloranti identificati nel corso del monitoraggio. A parte un campione di salame, tali additivi erano regolarmente indicati in etichetta e le loro concentrazioni (nei range 1.3-8.1 e 6.2-86.4 mg kg<sup>-1</sup> rispettivamente per Ponceau 4R e Carmine) rientravano nei rispettivi limiti di legge. Il Carmine è stato quantificato in 3 campioni di preparazioni di carni fresche (un hamburger ed una carne trita bovino/suino e una salsiccia fresca suina). In tali prodotti l'impiego di coloranti non è consentito, dunque, si evidenzia la necessità di effettuare più controlli a riguardo. Per quanto concerne la valutazione del rischio associato, l'apporto giornaliero risulta inferiore all'1% della DGA per entrambi i coloranti. Conclusioni: L'impiego di coloranti nelle carni è risultato molto limitato sia in termini quantitativi che qualitativi. Tuttavia, si sono verificati casi di campioni di preparazioni di carni fresche (hamburger, carni trite e salsicce fresche) nei quali il Carmine (E120) viene ancora addizionato, nonostante non sia più consentito. Pertanto, è auspicabile l'intensificazione dei controlli sui coloranti nelle carni, onde prevenire questo tipo di non conformità. Lavoro svolto grazie ai finanziamenti "Ricerca finalizzata 2013" del Ministero della Salute - Progetto GR-2013-02358862.

### P004

#### **Cromo, nichel e vanadio nei molluschi bivalvi e nei gasteropodi marini...questi sconosciuti**

Ersilia Maria Epifanio<sup>1\*</sup>, Ivan Corti<sup>2</sup>, Francesca Barchiesi<sup>1</sup>, Stefano Rea<sup>3</sup>, Anna Rita Loschi<sup>3</sup>, Mario Latini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia; <sup>2</sup>Agenzia di Tutela della Salute dell'Insubria, Varese;

<sup>3</sup>Università degli Studi di Camerino, Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Camerino (MC), Italia

I metalli pesanti introdotti nell'ambiente marino a causa dell'inquinamento possono rappresentare potenziali pericoli per le loro caratteristiche di persistenza e bioaccumulo nella catena alimentare. È noto che l'esposizione alimentare cronica ai contaminanti inorganici è motivo di preoccupazione per la popolazione. Cromo (Cr), nichel (Ni) e vanadio (V) sono metalli di interesse crescente per le loro proprietà tossiche, per i quali ad oggi la normativa comunitaria e nazionale di riferimento non stabilisce limiti massimi per alcuna matrice alimentare, compresi i molluschi bivalvi, buoni biomarcatori ambientali. Attualmente l'EFSA ha definito per essi dosi giornaliere tollerabili (DGT). Nell'Unione Europea sono attualmente previsti tenori massimi di Ni soltanto nelle acque minerali naturali (20µg/l) e nell'acqua potabile nella quale alcuni studi indicano la possibile presenza anche di Cr6+. In considerazione del fatto che i molluschi bivalvi possono concentrare V da trenta a cinquanta volte rispetto alla sua concentrazione nell'acqua marina, sarebbe auspicabile un adeguato controllo analitico di tali prodotti (sia freschi

che trasformati) in modo da garantirne un consumo sicuro. Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare la presenza dei metalli Cr, Ni e V in mitili (*Mytilus galloprovincialis*), vongole (*Chamelea gallina*), ostriche (*Ostrea edulis*), murici (*Bolinus brandaris*) e lumachini (*Nassarius mutabilis*), molluschi rappresentativi dell'area medio Adriatica, mediante il metodo ICP-MS. Per ciascuna specie sono state calcolate le medie aritmetiche delle concentrazioni dei metalli considerati. Dai risultati emerge che *Mytilus galloprovincialis* ha presentato concentrazioni medie superiori a 0,3 mg/kg per tutti i metalli. Concentrazioni medie simili di Cr e Ni sono state rilevate anche in *Chamelea gallina* nella quale il V era presente con valori medi pari a 0,04 mg/kg. Per quanto riguarda *Ostrea edulis*, le concentrazioni medie erano 0,2 mg/kg per V e circa 0,1 mg/kg per Cr e Ni. Tra i gasteropodi marini, le concentrazioni medie rilevate in *Nassarius mutabilis* erano di 0,02 mg/kg per Cr e 0,13 mg/kg per Ni, mentre in *Bolinus brandaris* la concentrazione media di Ni è risultata pari a 0,15 mg/kg. Dai risultati emerge come sia opportuno un approfondimento della conoscenza di tale problematica da parte delle Autorità nazionali e internazionali per la sicurezza alimentare anche nei gasteropodi marini, in merito ai quali ad oggi le informazioni disponibili risultano scarse.

## P005

### **Persistenza di *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes* in larve di *Hermetia illucens* L., e *Tenebrio molitor* L.**

Giovanni Pupillo, Paolo Gigante, Ida Treglia, Annalisa Grisendi, Francesco Defilippo, Michele Dottori, Paolo Bonilauri\*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sede di Reggio Emilia, Italia

Scopo: La sicurezza microbiologica nell'allevamento degli insetti destinati a diventare alimento o mangime è fondamentale, tuttavia sono ancora poche le informazioni sulla dinamica di trasmissione di batteri patogeni dal substrato agli insetti e da questi all'alimento. A questo scopo abbiamo valutato la dinamica di due patogeni alimentari, *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocytogenes* in due specie di insetti *Hermetia illucens* L. e *Tenebrio molitor* L., rispettivamente un dittero ed un tenebrionide, contaminando il substrato di crescita e quantificando la contaminazione del substrato e degli insetti durante le diverse fasi di sviluppo. Metodi: Gli insetti sono stati allevati in condizioni controllate, RH 65%, al buio e 28°C per *T. molitor* e RH 70%, al buio e 25°C per *H. illucens*. Tutti gli esperimenti sono stati condotti in 3 repliche ed è stato sempre previsto un controllo non contaminato. La contaminazione è avvenuta nel caso di *T. molitor* mediante l'aggiunta, al giorno 7 delle larve cresciute su crusca di frumento, di patata (30g) contaminata superficialmente con 2 ml di brodo contenente  $10^8$ - $10^9$  CFU/ml dei patogeni in esame e lasciata a disposizione per 5 giorni. I campioni di insetto, substrato e patata sono stati prelevati il giorno 0, 1, 4, 8, 14, 22, 57, 68. Nel caso di *H. illucens* le uova sono state fatte schiudere direttamente su una dieta (Gainesville) contaminata mediante aggiunta di 4 ml di brodo contenente  $10^8$ - $10^9$  CFU/ml di *S. Typhimurium* e *L. monocytogenes*. Il prelievo dei campioni di insetto e substrato, è stato eseguito ai diversi stadi larvale, allo stadio di pupa e di adulto. In tutte le prove, per permettere la crescita degli insetti, è stata aggiunta dieta non contaminata. Risultati: Le larve di *T. molitor* risultano contaminate a partire da 4 ore dopo l'ingestione del substrato contaminato e la contaminazione si mantiene costante fino al giorno 4 nel caso di *L. monocytogenes* (6 log) e fino al

giorno 8 per *S. Typhimurium* (6 log), per poi iniziare lentamente, ma progressivamente a decrescere fino a non risultare più conteggiabili (<100 UFC/g) per entrambi i batteri in esame nelle larve dal giorno 57 e successivamente. Le larve allo stadio L2 di *H. illucens* presentano una contaminazione differente tra *Salmonella* e *L. monocytogenes*, rispettivamente  $4,3 \times 10^2$  e  $5 \times 10^5$  UFC/g, che subisce un leggero aumento di circa 1 log a L3 per entrambi i patogeni, per poi nel caso di *Salmonella* restare costante fino allo stadio di pre-pupa (L5) e risultare non conteggiabile nelle pupe. Mentre nel caso di *L. monocytogenes* la contaminazione rimane pressoché costante fino al livello di pupa, dove risulta ancora conteggiabile (4 log). Conclusioni: Le specie di insetto considerate in questo studio sono tra le più promettenti per la produzione di alimenti e mangimi. Per questi fini sono utilizzate principalmente larve di entrambe le specie di età simile a quella dell'ultimo campionamento effettuato. Nel nostro studio, nonostante la contaminazione del substrato è avvenuta soltanto all'inizio degli allevamenti, le larve delle ultime fasi di sviluppo sono risultate ancora a vario titolo, contaminate. Risulta quindi importante il controllo del substrato di crescita fin dalle prime fasi dell'allevamento.

## P006

### **Insetti ad uso edibile: assorbimento e bioaccumulo di cadmio in larve di *Hermetia illucens* ed effetti sul suo ciclo vitale**

Francesco Defilippo, Annalisa Grisendi, Paolo Gigante, Giovanni Pupillo, Michele Curatolo, Michele Dottori, Paolo Bonilauri\*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sede di Reggio Emilia, Italia

L'identificazione di potenziali rischi tossicologici legati all'uso di insetti come alimento deve prendere in considerazione sia la biologia della specie oggetto di interesse (ciclo vitale, metamorfosi, produzione endogena di sostanze velenose) sia le caratteristiche dell'allevamento. Per quanto riguarda le specie di insetti di interesse queste hanno caratteristiche biologiche ed esigenze nutrizionali anche molto differenti per cui non è possibile considerare gli insetti allevabili come un'unica entità biologica. Infatti le differenze di anatomia, metabolismo e alimentazione esistenti nelle specie di insetti sono rilevanti per la valutazione del rischio, in particolare per quel che riguarda il rischio chimico. Per tale motivo il nostro studio ha valutato la capacità di bioaccumulo di cadmio in *Hermetia illucens*, specie di dittero particolarmente indicato per la produzione di alimenti e mangimi. Una colonia di *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly, BSF) è stata allestita e mantenuta in laboratorio in condizione di temperatura, umidità e fotoperiodo ottimali. Le larve ottenute sono state utilizzate per definire il rischio chimico attraverso la valutazione della loro capacità di accumulo, in ogni fase del loro sviluppo, quando alimentate su substrato artificialmente contaminato con cadmio a concentrazioni pari a 1,109 mg/Kg. Il substrato di controllo presentava una concentrazione iniziale di cadmio pari a 0,030 mg/kg. Per ogni prova (n=3) sono state utilizzate circa 300 larve. Gli esemplari di BSF sono stati campionati ad ogni cambiamento di stadio e stoccati a -80°C in attesa di eseguire le analisi chimiche. Ogni campione è stato processato tramite spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS). Per ogni stadio di crescita è stato calcolato il fattore di bioaccumulo (BAF). Attraverso la valutazione dell'età larvale, peso pupale, tempi necessari al cambiamento di stadio, è stato stimato il progredire dello sviluppo degli

esemplari allevati. I dati ottenuti mostrano una concentrazione in Cd sia nelle larve che nelle pupe sempre maggiore di 2 mg/Kg, e quindi superiore al limite di legge con una graduale diminuzione nelle ultime fasi di sviluppo. La concentrazione di Cd nel substrato residuo tende a mantenersi pressoché costante (>2.5mg/Kg) fino a larva IV stadio per poi diminuire durante le fasi di prepupa e pupa (<1.5mg/Kg). Nel controllo la concentrazione è sempre <1mg/Kg sia nelle larve che nel substrato residuo. Il BAF ha evidenziato un aumento sostanziale nella fase di prepupa e pupa con valori, rispettivamente pari a 2.89 e 2.87. I tempi di sviluppo sono stati superiori al gruppo di controllo di circa 10gg. Lo studio rivela un'elevata capacità di BSF di accumulare cadmio. L'allungamento dei tempi di crescita nelle larve allevate su substrato contaminato risulta atteso. Infatti, i metalli pesanti possono influire sul metabolismo di carboidrati, lipidi e proteine causando una diminuzione di energia disponibile e un conseguente rallentamento della crescita. La valutazione della sicurezza dei mangimi e degli alimenti a base di insetto necessita quindi di una più ampia comprensione dei meccanismi che possono favorire l'accumulo di sostanze indesiderate. Infatti, il bioaccumulo di elementi tossici pone seri quesiti sulla possibilità di utilizzare per l'alimentazione degli insetti substrati di crescita non ottimali con l'intento di aumentare la sostenibilità economica e ambientale dell'allevamento.

## P007

### **Iter operativo del servizio igiene degli alimenti di origine animale dell'Area Vasta n. 4 di Fermo ai fini della pianificazione ed esecuzione degli audit sul benessere animale alla macellazione: contributo pratico**

Loredana Di Giacomo<sup>1\*</sup>, Antonio Angellotti<sup>1</sup>, Gabriela Ciccaleni<sup>1</sup>, Ezio Ferretti<sup>1</sup>, Sandro Fichera<sup>1</sup>, Valentina Gentili<sup>1</sup>, Francesco Livini<sup>1</sup>, Luigi Marilungo<sup>1</sup>, Flavio Pasquali<sup>1</sup>, Angeliki Riganatou<sup>1</sup>, Simonetta Ruggeri<sup>1</sup>, Anna Rita Loschi<sup>2</sup>, Roberta Stocchi<sup>2</sup>

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

A seguito della pubblicazione del rapporto europeo sul benessere animale (BA) alla macellazione del Food Veterinary Office del 2015, il Servizio di Igiene degli Alimenti di Origine Animale (SIAOA) dell'Area Vasta n. 4 di Fermo ha messo in atto una serie di interventi al fine di ricoprire un ruolo attivo nel miglioramento delle pratiche relative al BA alla macellazione mediante confronto con gli operatori del settore alimentare (OSA) responsabili dei mattatoi e approfondimento della tematica tra i Veterinari del servizio con il supporto di colleghi esterni. Nel primo semestre del 2018 sono stati programmati 5 *audit* inerenti la verifica dei requisiti generali e specifici relativi all'igiene della macellazione in mattatoi per suini (n. 2), ovini (n. 1), ungulati domestici (n. 1) e pollame (n. 1). Agli *audit* ha partecipato, come osservatore, personale qualificato dell'Università degli Studi di Camerino con lo scopo di acquisire spunti di riflessione utili per lo svolgimento dei successivi *audit* sul BA, programmati per il secondo semestre. Al fine di agevolare l'attività dei Veterinari e per far sì che ciascuno di essi potesse valutare le operazioni di macellazione con parametri oggettivi, costanti ed uniformi, sono state predisposte schede di monitoraggio con la definizione di criteri di valutazione del benessere di tipo animal-based per tutte le fasi pre-macellazione, dal ricevimento fino al termine del dissanguamento. La scelta dei parametri da monitorare

per ciascuna specie è stata dettata dalla possibilità di osservazione dei diversi criteri in piccoli impianti di macellazione di non recente costruzione, come quelli insistenti nella realtà ferma. Nel secondo semestre il controllo si è svolto attraverso attività di *audit* per la verifica dei requisiti strutturali e operativi con l'obiettivo di focalizzare l'attenzione sui punti critici e sugli interventi migliorativi messi in atto o meno da parte degli OSA, a seguito delle indicazioni fornite dal personale qualificato. L'esecuzione del controllo è avvenuta mediante la compilazione della check list riportata nelle linee guida sull'applicazione del Regolamento (CE) 1099/2009 e delle schede di monitoraggio messe a punto dal SIAOA di Fermo. Dall'esperienza maturata emerge come l'approccio di tipo "preventivo" da parte dell'Autorità Competente abbia permesso agli OSA di aumentare la consapevolezza dell'importanza del rispetto del BA. Inoltre, la collaborazione con personale esterno qualificato è risultata un prezioso strumento per l'ottimizzazione dell'attività di *audit*. L'utilizzo della sola check list rappresenta una base importante ma difficilmente applicabile in toto alle piccole realtà aziendali senza strumenti integrativi utili ad agevolare il controllo da parte del Veterinario Ufficiale. Anche per il BA alla macellazione, analogamente a quanto previsto per la sicurezza alimentare, è pertanto necessario individuare distinte categorie di criteri oggettivamente misurabili che consentano l'inclusione dei mattatoi in specifiche classi di rischio sulle quali definire appropriate frequenze di controllo.

## P008

### **Filiera produttiva di insetti ad uso feed & food: analisi e definizione del profilo di rischio**

Francesco Chiesa<sup>1</sup>, Pierluigi Di Ciccio<sup>1</sup>, Selene Rubiola<sup>1</sup>, Tiziana Civera<sup>1</sup>, Nicola Piumatti<sup>2</sup>, Ausilia Grassi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Grugliasco (TO); <sup>2</sup>Tecnico della prevenzione, Libero professionista, Italia

Secondo stime effettuate dalla FAO, il 70% del suolo agricolo è utilizzato con lo scopo di produrre mangime e alimenti per il bestiame, gli oceani sono eccessivamente sfruttati, i cambiamenti climatici e la scarsità d'acqua, inoltre, potrebbero influire negativamente sulla produzione di cibo negli anni a venire. Sempre maggior interesse quindi viene rivolto al consumo di insetti come una risorsa proteica alternativa per l'alimentazione (*Feed & Food*). Partendo dal parere dell'EFSA sulla valutazione del rischio connesso all'uso di insetti allevati e destinati ad essere utilizzati come *Feed & Food*, si è ritenuto utile approfondire la conoscenza relativa alle diverse fasi di allevamento degli insetti, al fine di elaborare un documento che agevoli le fasi di monitoraggio e consenta la prevenzione dei rischi, mantenendo elevati standard qualitativi ed igienico sanitari sin dal primo anello della filiera: la produzione primaria. Lo studio è stato condotto presso un allevamento sperimentale di mosche soldato (*Hermetia illucens*) sito in Piemonte con il seguente protocollo: osservazione del ciclo vitale della specie allevata compresi gli ambienti di allevamento, le condizioni fisiche ed il microclima che li caratterizzano, nonché il regime alimentare della specie allevata. Analisi della collocazione dei singoli stadi del ciclo vitale nel contesto del processo produttivo dell'allevamento. Analisi del processo produttivo: analisi delle singole fasi per evidenziare le criticità presenti, le misure atte a prevenirle e/o a correggerle, la documentazione e le registrazioni da predisporre ed aggiornare. I dati raccolti in campo hanno permesso di individuare le fasi che caratterizzano il processo produttivo ed i possibili punti critici di ognuna di esse, consentendo l'elabo-



razione di una “linea guida” rivolta sia all’OSA sia alle figure deputate ai controlli, utile per individuare tempestivamente scostamenti e criticità ed attuare così le azioni correttive.

## P009

### Street food: indagine sul livello di formazione dell’operatore del settore alimentare

Francesco Chiesa<sup>1</sup>, Pierluigi Di Ciccio<sup>1</sup>, Tiziana Civera<sup>1</sup>, Francesco Federico Bisogno<sup>2</sup>, Ausilia Grassi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Grugliasco (TO); <sup>2</sup>Tecnico della prevenzione, Libero professionista, Italia

Per *street food* si intendono alimenti pronti per il consumo che sono venduti e spesso anche preparati in strada o in altri luoghi pubblici come mercatini, fiere, eventi sportivi. Secondo le stime della FAO, circa 2,5 miliardi di persone mangiano quotidianamente cibo di strada per vari motivi tra cui economicità, velocità di consumo, vicinanza al luogo di lavoro, oppure curiosità e desiderio di provare sapori nuovi o quasi dimenticati. Data la costante ascesa dell’incidenza delle Malattie Trasmesse dagli Alimenti nei paesi industrializzati e vista la dimensione del fenomeno *street food*, risulta fondamentale valutare accuratamente le caratteristiche di tale ristorazione per garantire la sicurezza dei consumatori e, in particolare, si è posta particolare attenzione alla formazione degli OSA ed all’impatto che questa può avere nel rispetto dei requisiti previsti dalla normativa cogente. Per analizzare il livello di formazione dell’Operatore del Settore Alimentare (OSA) e cercare di mappare la situazione sul territorio della Città Metropolitana di Torino, è stata predisposta una checklist/questionario volta ad ottenere informazioni utili per individuare e successivamente valutare, le eventuali carenze formative e strutturali. La checklist comprendeva 6 sezioni riguardanti specifici ambiti: la sezione I relativa all’anagrafica del campione ed alla tipologia di attività (informazioni sulla struttura di vendita, sugli alimenti trattati, ecc). Le sezioni II, III, IV, e V raggruppavano domande necessarie per raccogliere informazioni sulla gestione delle fasi lavorative da parte dell’OSA, al fine di valutare sia il livello di conoscenza relativo agli obblighi normativi, sia il rispetto dei requisiti strutturali ed operativi (acquisizione materie prime, conservazione e manipolazione degli alimenti, requisiti e caratteristiche strutturali). Infine la sezione VI (Formazione OSA) con domande riguardanti nozioni generali di sicurezza alimentare. Sono state prese in considerazione 51 checklist, su 67 totali, in quanto 16 operatori si sono rifiutati di rispondere. Le risposte ottenute hanno evidenziato criticità relativamente sia alla formazione, sia alla corretta applicazione delle procedure. In particolare si è rilevato un livello di conoscenza parziale, relativamente al concetto di cross contamination, di trasmissione di *Salmonella* dagli OSA all’alimento e cattivo stato di conservazione (domande con il minor numero di risposte corrette). L’osservazione delle strutture mobili, ha permesso di evidenziare gravi carenze relative all’adeguata separazione di alimenti, al mantenimento ed al controllo della catena del freddo, alla corretta separazione dei piani di lavoro ed al mantenimento delle temperature nel caso di prodotti preparati in anticipo. Lo studio ha evidenziato per gli OSA *street vendors* la necessità di gestire problematiche difficilmente eliminabili per tale attività come ad esempio spazi piccoli o a contatto con l’ambiente esterno, tempi ridotti per preparazione e somministrazione della pietanza, attrezzature numericamente insufficienti, ecc.. In aggiunta, il livello di formazione è risultato molto carente, evidenziando la necessità di intervenire al fine di ridurre la probabilità di rischio.

## P010

### Esempio di applicazione di metodiche innovative per lo studio dei fattori favorenti la tossinogenesi in un focolaio di intossicazione alimentare

Guido Finazzi<sup>1\*</sup>, Virginia Filipello<sup>1</sup>, Chiara Campanella<sup>1</sup>, Barbara Bertasi<sup>1</sup>, Irene Bertoletti<sup>3</sup>, Massimo Campagnani<sup>2</sup>, Angelo Romano<sup>4</sup>, Lucia Decastelli<sup>4</sup>, Marina Nadia Losio<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>IZSLER Reparto Controllo alimenti, Brescia; <sup>2</sup>ATS della Montagna, Distretto Veterinario Medio Alto Lario, Menaggio (CO); <sup>3</sup>IZSLER Sezione Diagnostica di Sondrio; <sup>4</sup>IZS Piemonte Liguria e Valle d’Aosta LNR Stafilococchi coagulasi positivi compreso *S. aureus* (LNR CPS), Torino; <sup>5</sup>IZSLER CRESA Centro di referenza nazionale per i rischi emergenti in sicurezza alimentare, Milano, Italia

L’intossicazione da tossine stafilococciche è una delle più frequenti patologie a trasmissione alimentare. Tale patologia è causata dall’ingestione di alimenti, spesso prodotti derivati dal latte, che contengono la tossina preformata prodotta da *S. aureus* (SA). Sull’arco Alpino sono molto diffusi i prodotti caseari a latte crudo che vengono lavorati manualmente in piccoli caseifici d’alpeggio. Questi formaggi tradizionali rappresentano prodotti molto ricercati dai consumatori anche per le sempre più diffuse tendenze alimentari che spingono alla ricerca di alimenti naturali e sapori autentici. In alcune situazioni però la mancanza di adeguate condizioni igieniche applicate nel processo di produzione possono aumentare la probabilità di contaminazione con SA. Lo scopo di questo lavoro è descrivere un episodio di tossinfezione alimentare che si è verificato nell’estate del 2018 e che ha coinvolto 3 persone appartenenti allo stesso nucleo familiare. In seguito ad una segnalazione ricevuta da un Ospedale della Lombardia, l’ATS della Montagna si è attivata ad eseguire un campionamento mirato per investigare la causa dell’intossicazione. Nello specifico sono stati prelevati il residuo di formaggio consumato dagli intossicati, un campione proveniente dalla stessa forma disponibile presso il negozio di vendita, e nell’alpeggio di produzione 6 differenti lotti di formaggio, un campione di latte crudo, e tamponi su 6 diverse superfici ambientali e sulle mani dell’operatore. Su tutti i campioni è stata eseguita la numerazione di Stafilococchi coagulasi positivi (SCP) e sui campioni di alimenti è stata eseguita la ricerca delle enterotossine stafilococciche. Un isolato per campione è stato tipizzato con MLST, spa typing, presenza dei geni codificanti per le enterotossine e per la meticillino-resistenza. Sul ceppo isolato è stato effettuato un test *in vitro* per la valutazione della tossinogenesi in funzione della concentrazione microbica misurandole a diversi intervalli di tempo. Il campionamento ha permesso di risalire all’alimento responsabile e di individuare lo stabilimento di produzione. La presenza di tossine stafilococciche è stata rilevata in tutti i campioni di formaggio (analisi confermate sia dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per SCP presso IZS Piemonte Liguria e Valle d’Aosta, che dal Laboratorio Comunitario Anses di Parigi che ha identificato tossina di Tipo D) ma non nel latte. SCP (da 101 a 104 ufc/g) sono stati rilevati in tutti i campioni. Tutti gli isolati sono stati identificati come SA meticillino-sensibile t13296-ST8, con lo stesso pattern di geni codificanti le enterotossine stafilococciche (sed, ser e sej). Il test *in vitro* ha evidenziato la produzione di enterotossina solo a partire da concentrazione microbica superiore a 105 ufc/ml come anche riportato in bibliografia. La tecnologia di produzione usata in alpeggio potrebbe non essere efficace nel prevenire e limitare la proliferazione di SA nelle fasi precoci del processo di caseificazione. L’applicazione di basilari buone pratiche di lavorazione, partendo dal controllo sanitario della mandria e dall’igiene di mungitura combinate con la sorveglianza sul prodotto sono fondamentali per prevenire situazioni che possono sfociare in episodi di tossinfezione. L’applicazione delle tecniche di tipizzazione molecolare

consente un approfondito confronto tra gli isolati fornendo importanti informazioni sull'epidemiologia dei casi.

Lavoro finanziato grazie al PRC J18F15000080001.

## P011

### Messa a punto e validazione di una metodica in real-time PCR per la determinazione di *Clostridium tyrobutyricum*

Sara Arnaboldi<sup>1\*</sup>, Barbara Bertasi<sup>1</sup>, Elisa Galuppini<sup>1</sup>, Lucia Mangeri<sup>1</sup>, Michela Tilola<sup>1</sup>, Anna Zelioli<sup>2</sup>, Daniela Bassi<sup>2</sup>, Pier Sandro Cocconcelli<sup>2</sup>, Angelo Stroppa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sede di Brescia; <sup>2</sup>Università Cattolica del Sacro Cuore, Cremona; <sup>3</sup>Consorzio per la tutela del formaggio Grana Padano, Desenzano del Garda (BS), Italia

Nell'industria lattiero-casearia, il fenomeno del gonfiore tardivo dei formaggi a lunga stagionatura (es. Gouda, Emmental, Groviera, Grana Padano) causa perdite economiche significative. Questo difetto del formaggio è caratterizzato dalla produzione, all'interno della forma, di gas con conseguente formazione di occhiate e strappi nella pasta ed aromi sgradevoli legati alla produzione di butirrato. I batteri sporigeni gram positivi ed anaerobi appartenenti al genere *Clostridia* sono tra i principali responsabili di questo fenomeno, essendo presenti nell'ambiente e andando a contaminare il latte utilizzato per la produzione di formaggio. Il *Most Probable Number* (MPN), metodo di riferimento ancor oggi utilizzato per determinare la presenza degli sporigeni totali nel latte, è un metodo culturale in terreno liquido, semi-quantitativo, che misura la produzione di gas in anaerobiosi dopo trattamento termico per distruggere le cellule vegetative e indurre la germinazione delle spore. Questo metodo fornisce risultati spesso incerti a causa della mancata germinazione di tutte le spore nel terreno di coltura, richiede lunghi periodi di incubazione e non riesce a differenziare tra le diverse specie di batteri sporigeni. Molti studi hanno dimostrato che tra gli sporigeni, il *Clostridium tyrobutyricum* rappresenta la causa primaria di gonfiore tardivo in formaggi a pasta dura, quali ad esempio il Grana Padano DOP. Le sue spore resistono infatti alla pastorizzazione e meno di 50 spore/L possono causare lo sviluppo di gonfiore durante la stagionatura. La messa a punto di una tecnica alternativa al metodo tradizionale, più rapida e specifica, risulta quindi di estremo interesse per poter determinare in maniera preventiva la contaminazione del latte da parte di *C. tyrobutyricum*. L'obiettivo del progetto è stato la messa a punto e la validazione di un protocollo di *Real-time* PCR quantitativa per la determinazione di *C. tyrobutyricum* in latte. La metodica consiste in una preliminare preparazione del campione, nell'estrazione del DNA batterico da latte e in una *Real-time* PCR quantitativa utilizzando come target per primer e sonda *TaqMan* il gene della fosfotransacetilasi (pta) di *C. tyrobutyricum*. In fase di validazione è stata dimostrata la sensibilità e la specificità della metodica per la determinazione di *C. tyrobutyricum* in latte, con un limite di determinazione (LOD) di 10<sup>1</sup> UFC/mL con il 100% di repliche positive, e un limite di quantificazione (LOQ) di 10<sup>1</sup> UFC/mL, mentre l'inclusività (analizzati 2 ceppi target) e l'esclusività (analizzati 32 ceppi non target) risultano essere del 100%. A seguito della validazione della metodica sono stati analizzati 120 campioni di latte UHT e di latte di massa artificialmente contaminato con spore di *C. tyrobutyricum* in concentrazioni crescenti: 10, 50, 100, 500 spore in 50 mL di latte. Sugli stessi campioni è stato inoltre messo a confronto il metodo molecolare rispetto alla metodica dell'MPN evidenziando come quest'ultima sia

meno affidabile poiché talvolta sovrastima o sottostima il campione analizzato e non mostra inoltre differenze di quantificazione al di sotto di 1000 UFC/L attese. Infine, sono stati analizzati 144 campioni di latte di massa che hanno dimostrato una percentuale di positività del 17.36%. Dai risultati ottenuti si può desumere come la metodica sia applicabile in ambito routinario.

## P012

### Caratterizzazione mediante *pulsed-field gel electrophoresis* dei sierotipi di *Salmonella* emergenti sul territorio piemontese

Clara Tramuta, Daniela Manila Bianchi, Silvia Gallina, Irene Ferrero, Lucia Decastelli\*

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

Secondo il report EFSA 2017, *Salmonella* spp. è il secondo patogeno a trasmissione alimentare segnalato nell'uomo ed è presente in natura con più di 2500 sierotipi differenti. Per l'uomo la principale fonte di infezione è rappresentata dagli alimenti di origine animale contaminati. I dati raccolti in Piemonte dal Centro di Riferimento Regionale per la tipizzazione delle Salmonelle (CeRTiS) hanno evidenziato che dei 458 ceppi di origine umana tipizzati nel 2016 i sierotipi più frequenti sono rappresentati da *S. 4,[5],12:i:-* (48%), *S. Enteritidis* (18%), *S. Typhimurium* (8%), *S. Derby* (5%), *S. Napoli* (3%), *S. Infantis* (2%). Inoltre, in Piemonte tra il 2015 ed il 2017 è stato osservato un aumento della prevalenza dei sierotipi di *S. Derby*, *S. Infantis* e *S. Napoli* di origine umana. Già da anni si è iniziata ad applicare con successo la tipizzazione molecolare in supporto alle metodiche tradizionali poiché in grado di garantire una più accurata caratterizzazione. La più conosciuta ed utilizzata è la *Pulsed-field gel electrophoresis* (PFGE), ancora considerata il metodo gold standard per le analisi di confronto e caratterizzazione. Con questa metodica è infatti possibile valutare le relazioni che intercorrono a livello genetico tra isolati che si sospetta possano essere epidemiologicamente correlati. L'obiettivo di questo studio è stato caratterizzare mediante PFGE 42 ceppi di *Salmonella* - *S. Derby* (N=21), *S. Napoli* (N=14) ed *S. Infantis* (N=7) - di origine umana, isolati in Piemonte nel 2016 per valutare correlazioni genetiche e eventuali discendenze clonali. I 42 ceppi di *Salmonella* sono stati sottoposti a PFGE secondo il protocollo adottato dal network PulseNet che prevede l'impiego dell'enzima *XbaI* e come marker dei pesi molecolari il ceppo di *Salmonella Braenderup*. Il gel è stato colorato con GelRed e visualizzato mediante transilluminatore a raggi UV Gel Doc (Bio-rad). Le immagini del gel di agarosio sono state acquisite in formato digitale tiff al fine di poter essere analizzate mediante software BioNumerics versione 7.6 (Applied Maths) che calcola la matrice di similarità tra i differenti profili di restrizione. L'analisi dei ceppi di *S. Derby* ha evidenziato due cluster principali (A e B): il cluster A è costituito da 13 isolati (similarità dell'83%) tra cui 5 con lo stesso pattern genetico (similarità del 100%); il cluster B è formato da 6 ceppi con identico profilo (similarità del 100%). I ceppi di *S. Derby* sono stati isolati principalmente a Biella, Verbania e Cuneo facendo così supporre la presenza di cloni epidemiologici circolanti in queste aree. L'analisi del dendrogramma ottenuto sui ceppi di *S. Napoli* ha mostrato un coefficiente di similarità del 76% tra gli isolati; anche in questo caso sono stati individuati due cluster: al cluster A appartenevano 3 ceppi (similarità dell'83%) e al cluster B 6, isolati principalmente a

Verbania, Alessandria e Novara. Tra i 7 ceppi di *S. infantis*, isolati prevalentemente a Torino e Cuneo, 5 erano correlati geneticamente, mostrando una similarità dell'88%. In generale quindi, mediante l'impiego della metodica PFGE è stata osservata una forte omologia tra i ceppi appartenenti allo stesso sierotipo identificati nelle diverse provincie del Piemonte. In particolare, la maggior parte degli isolati di *Salmonella* considerati in questo studio ha mostrato un coefficiente di similarità maggiore all'80%-90%, e quindi considerati strettamente correlati dal punto di vista genetico.

### P013

#### Valutazione del rischio per *Listeria monocytogenes* in coppa di testa

Chrystalleni Hadjicharalambous<sup>1</sup>, Luca Grispoldi<sup>2</sup>, Paola Sechi<sup>2</sup>, Beniamino Cenci Goga<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Università di Creta, Grecia; <sup>2</sup>Università degli Studi di Perugia, Italia

I prodotti cotti a base di carne sono tra gli alimenti pronti al consumo (RTE: ready to eat per gli autori anglofoni) più venduti in Europa e sono anche associati a numerosi casi di listeriosi ogni anno. La contaminazione da *Listeria monocytogenes* può derivare dal post-processing e lo sviluppo del microrganismo è favorito dalle condizioni di pH e aw del prodotto. *L. monocytogenes*, inoltre, può raggiungere livelli di contaminazione elevati durante la conservazione a condizioni di refrigerazione, ponendo così un rischio per la salute pubblica. Scopo di questo lavoro, condotto nell'ambito del progetto RALM-RTE di EFSA EU-FORA è stato quello di condurre una valutazione quantitativa del rischio microbiologico (QMRA: quantitative microbial risk assessment) per *L. monocytogenes* in un tipico prodotto italiano RTE, la coppa di testa. La coppa di testa è un prodotto a base di carne cotta diffuso sul territorio nazionale ma con produzione locale in diverse regioni italiane, con processo produttivo analogo ma con variazioni relative all'aggiunta di sostanze aromatizzanti. La materia prima è costituita in tutti i casi da spolpo di testa suina, che può essere integrata con lingua di maiale e cotenna. La carne, dopo la cottura, è addizionata di sale, spezie ed altre sostanze aromatizzanti, miscelata ed insaccata. Può essere commercializzata intera oppure in tranci confezionati sottovuoto. Non vi è stagionatura e il prodotto rimane di consistenza gelatinosa. Per QMRA sono stati usati i seguenti dati: prevalenza e concentrazione del microrganismo, condizioni di abuso tempo-temperatura durante il trasporto e la conservazione, condizioni dose-risposta (crescita del microrganismo e potenziale capacità di provocare malattia in consumatori appartenenti alla popolazione generale e in consumatori appartenenti alle categorie a rischio). I dati sono stati ottenuti da: analisi di laboratorio su campioni di coppa di testa (n=50), interviste ai consumatori per classi di età (n=160), registrazione delle temperature di frigoriferi domestici (n=60) e completati con dati dalla letteratura e forniti dalle autorità competenti. I dati sono stati descritti attraverso la distribuzione di probabilità e inseriti in un modello di crescita per *L. monocytogenes* ottenuto dalla letteratura. Sulla base di questi elementi è stato applicato un modello probabilistico per valutare la crescita di *L. monocytogenes* a ogni fase della filiera (produzione, trasporto, conservazione in negozio, trasporto e conservazione domestica) attraverso la simulazione Monte Carlo con software @Risk di Palisade Inc. Il modello matematico descrive la probabilità che si verifichi una contaminazione dopo la produzione e l'effetto del successivo eventuale abuso ter-

mico cumulativo sulla crescita del microrganismo e quindi la probabilità che una porzione di prodotto determini malattia nel consumatore. Il modello prevede che in caso di contaminazione dopo la produzione *L. monocytogenes* può raggiungere livelli superiori a 100 ufc/g alla fine della shelf life. Tuttavia il «rischio listeriosi per porzione consumata per la popolazione generale» e il «rischio listeriosi per porzione consumata per la popolazione a rischio» è molto basso (inferiore a 10<sup>-9</sup>) soprattutto perché la prevalenza riscontrata è bassa (<2%) e in rapporto alla ridotta esposizione del consumatore al prodotto. Il modello sviluppato per la presenza di *L. monocytogenes* in coppa di testa e i dati ottenuti costituiscono la base per l'applicazione di adeguate misure di controllo per minimizzare il rischio per la salute pubblica.

### P014

#### Tecnica rapida per la caratterizzazione d'origine geografica di acciughe salate

Maria Olga Varrà\*, Emanuela Zanardi, Sergio Ghidini, Adriana Ianieri

Università di Parma, Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Parma, Italia

Nel presente lavoro, è stata utilizzata la spettroscopia nel vicino infrarosso (NIR, *near infrared spectroscopy*) associata all'elaborazione chemiometrica dei dati spettrali, allo scopo di identificare in maniera rapida ed economica l'origine geografica di acciughe salate provenienti da quattro diversi paesi, corrispondenti a Spagna, Marocco, Tunisia e Croazia. Il dataset sperimentale era costituito da un totale di 700 esemplari di acciughe salate (*Engraulis encrasicolus*, acciuga europea), di cui 200 di origine spagnola (Mar Cantabrico, FAO 27.8), 200 di origine marocchina Mar Mediterraneo (Atlantico centro-orientale, FAO 34.1), 100 di origine tunisina (Mar Mediterraneo, FAO 37.2.2) e 200 di origine croata (Mar Mediterraneo, FAO 37.2.1). Allo scopo di aumentare la robustezza del modello discriminante, i campioni di ciascuna provenienza sono stati diversificati il più possibile, includendo nel dataset ulteriori variabili quali pezzatura, mese di pesca e tempo di maturazione in barile, volte a fornire una rappresentazione statica delle condizioni medie di approvvigionamento e produzione delle acciughe: i) la combinazione taglia piccola/pesca nel mese di maggio/10 mesi di maturazione in barile è stata scelta per gli esemplari originari dalla Spagna e del Marocco; ii) la combinazione taglia piccola/pesca nel mese di settembre/6 mesi di maturazione in barile è stata scelta per gli esemplari originari della Tunisia; iii) le combinazioni taglia piccola/pesca nel mese di maggio/10 mesi di maturazione in barile e taglia piccola/pesca nel mese di agosto/7 mesi di maturazione in barile è stata scelta per gli esemplari originari della Croazia. Allo stesso scopo, la variabilità interindividuale è stata ridotta a beneficio di un numero inferiore di acquisizioni spettrali unendo i due filetti di due diversi esemplari, i quali sono stati in seguito sminuzzati ed acquisiti in un intervallo di lunghezze d'onda compreso tra 1200 e 2500 nm. Gli spettri NIR risultanti, dopo essere stati pretrattati matematicamente mediante MSC (*Multiple Scatter Correction*) e seconda derivata, sono stati impiegati per la costruzione di un modello di classificazione dei campioni in base alla provenienza, attraverso l'applicazione di metodi di regressione multivariata di tipo discriminante (OPLS-DA, Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis). L'80% dei dati (280 spettri) è stato utilizzato per la costruzione del modello predittivo, mentre il 20% (70 spettri) è stato riservato a scopo di validazione esterna del modello stesso. I risultati

ottenuti hanno messo in evidenza un'elevata capacità di discriminazione di tutti i campioni di acciughe salate in base all'area geografica di provenienza. Nessun errore di classificazione è stato infatti riscontrato in fase di validazione esterna per i prodotti provenienti dalla Spagna, dal Marocco e della Tunisia (100% dei campioni assegnati correttamente alle rispettive classi di appartenenza), mentre un solo campione originario della Croazia è stato erroneamente classificato come proveniente dalla Spagna (95% dei campioni correttamente identificato). La spettroscopia NIR, abbinata a tecniche di analisi multivariata, offre una serie di vantaggi rispetto alle comuni metodiche classiche di analisi, e, seppur poco esplorata nel contesto della valutazione della qualità e dell'autenticità dei prodotti ittici, si è rivelata essere una metodica idonea per la caratterizzazione d'origine geografica di campioni di acciughe salate.

## P015

### Studio di shelf life riguardante *Listeria monocytogenes* in prodotti ready-to-eat: potenziale di crescita e probabilità tempo-dipendente

Manuela Del Torre<sup>1</sup>, Pierluigi Polese<sup>2</sup>, Mara Lucia Stecchini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine; <sup>2</sup>Dipartimento Politecnico di Ingegneria e Architettura, Università degli Studi di Udine, Italia

Per assicurare la conformità al Regolamento EU 2073/2005 sui criteri microbiologici sono stati redatti alcuni protocolli che descrivono accuratamente, nell'ambito di studi di shelf life aventi oggetto *L. monocytogenes* in prodotti RTE, le modalità di esecuzione dei challenge test. La determinazione del potenziale di crescita, definito come differenza tra la mediana della concentrazione (log ufc/g) al termine della shelf life e la mediana (log ufc/g) della concentrazione iniziale del pool di *Listeria* inoculate, rappresenta un aspetto saliente dell'approccio proposto. Non si può tuttavia prescindere da valutazioni critiche che ne hanno sottolineato i limiti, non solo metodologici (variabilità inter- e intra-lotto), ma anche in ordine alla limitata, in quanto specifica, valenza dell'output. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di presentare e validare un termine modellistico (probabilità tempo-dipendente, Pt) in grado di assolvere a comandi normativi, ma nel contempo essere sufficientemente flessibile nel caratterizzare la variabilità dei prodotti e dei processi.

Il caso studio è rappresentato da "tartare" di pesce, addizionate di un prodotto commerciale contenente acetato, inoculate con tre ceppi di *L. monocytogenes* e stoccate a temperature crescenti per complessivi 11 giorni per determinarne il potenziale di crescita. Sono state inoltre valutate sperimentalmente le minime concentrazioni inibenti (MIC) dell'acido acetico indissociato, utilizzando i medesimi ceppi di *Listeria*. Tali valori, unitamente ad altre misure caratterizzanti i prodotti in esame, sono stati utilizzati come dati di input per la stima della probabilità tempo-dipendente, mediante l'ausilio dell'applicazione Praedicere Possumus (PP) in versione dinamica. I challenge test effettuati su tre lotti hanno evidenziato il potere inibitorio dei composti addizionati per contenere la crescita di *L. monocytogenes*, anche in condizioni di lievi abusi termici. Il potenziale di crescita era sempre inferiore a 0.5 log, dimostrando così come le "tartare" non fossero in grado di consentire la crescita del patogeno, almeno nelle condizioni prese in esame. I valori di MIC ottenuti differivano tra i tre ceppi di *Listeria*, dimostrando la natura della variabilità di questi dati, che erano compresi tra 5.7-6.46 mM. La probabilità tempo-dipendente, stimata sulla base della MIC e della concentrazione dell'acido acetico indissociato,

unitamente ai dati chimico-fisici caratterizzanti i prodotti, presentava valori <0.1, valore soglia al di sotto del quale la crescita viene considerata improbabile. Con entrambe le procedure adottate si è potuto classificare gli RTE a base di pesce tra i prodotti che non consentono la crescita di *L. monocytogenes* e per i quali è possibile applicare il limite di 100 CFU/g. L'affidabilità delle predizioni ottenute con PP risulta accresciuta dall'utilizzo di dati sperimentali critici come quelli delle MIC. Si ritiene quindi che l'applicazione PP, con la specifica funzionalità probabilistica, possa rappresentare un utile strumento per identificare e validare strategie di mitigazione della crescita di *Listeria*, nonché determinarne la conformità ai criteri microbiologici.

## P016

### Monitoraggio di *Norovirus* in molluschi eduli lamellibranchi prelevati lungo la costa dell'Adriatico centrale nel 2018

Giuseppe Aprea, Silvia Scattolini\*, Daniela D'Angelantonio, Arianna Boni, Francesco Pomilio, Giacomo Migliorati, Nicola D'Alterio

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

I virus enterici, come evidenziato dai più recenti dati epidemiologici riguardanti le tossinfezioni alimentari, rappresentano sempre di più un grande rischio per la salute pubblica. L'European Food Safety Authority (EFSA) e l'European Centre for Disease and Control (ECDC) hanno stimato (2018) che gli agenti virali a trasmissione alimentare sono stati tra le principali cause di infezione in UE nel 2017, con 398 focolai e 8.520 casi umani. Tra i virus, i Calicivirus (inclusi i *Norovirus*) hanno rappresentato il gruppo più consistente, con 211 focolai e 6.550 casi umani. Tra gli alimenti maggiormente coinvolti nella trasmissione dei virus figurano i molluschi eduli lamellibranchi (MEL), i quali, grazie alla loro intensa attività filtrante, sono bio-accumulatori capaci di concentrare i virus al loro interno. Il principale rischio è legato al loro consumo crudi o poco cotti. In Italia, il piano di monitoraggio delle acque classificate per i MEL è un utile strumento per la valutazione della qualità delle acque in cui vivono questi animali e, di conseguenza, della loro salubrità come alimenti. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di presentare le prevalenze associate a *Norovirus* genogruppi GI e GII, nel 2018, in seguito ai risultati provenienti dal piano. In questo periodo temporale, sono stati analizzati 51 campioni di MEL (*Mytilus galloprovincialis*, *Ruditapes philippinarum*, *Chamelea gallina*, *Venus gallina*) prelevati lungo la costa abruzzese. I campioni sono stati sottoposti all'analisi qualitativa per la ricerca di *Norovirus* (genogruppi GI e GII) secondo la metodica ISO 15216-2 2013. La metodica Real Time PCR qualitativa ha rilevato 12 campioni (23.5%) positivi a *Norovirus*. Per quanto riguarda l'individuazione dei genogruppi (GI e GII) sono stati riscontrati 5 campioni positivi al genogruppo GI e 10 campioni positivi al genogruppo GII, inoltre 3 dei campioni sono risultati positivi sia al genogruppo GI che a quello GII. Dalle positività riscontrate, si evince una costante presenza negli anni di *Norovirus* nelle acque costiere dell'Adriatico centrale. Ulteriori approfondimenti mediante le tecniche di sequenziamento parziale o totale del genoma (NGS) possono costituire uno strumento utile per correlare filogeneticamente i ceppi virali circolanti e definire meglio le cause delle contaminazioni delle acque onde pianificare azioni di prevenzione di malattie negli uomini in una visione più globale di "one health".



## P017

**Valutazione della prevalenza di ceppi di *E. coli* verocitotossici in bovino e suini al macello**

Santa Girardi<sup>1</sup>, Andrea Mancusi<sup>1</sup>, Daniela Cristiano<sup>1</sup>, Davide Cardinale<sup>1</sup>, Marco Trotta<sup>2</sup>, Michele Scotti<sup>2</sup>, Carmelo Cavallo<sup>2</sup>, Yolande Thérèse Rose Proroga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Ispezione Alimenti, IZS Mezzogiorno, Portici (NA); <sup>2</sup>ASL Napoli 3 Sud, Torre del Greco (NA), Italia

Gli *E. coli* STEC rappresentano la quarta causa di malattia trasmessa da alimenti (MTA) in Europa (EFSA 2018) con forte impatto sulla salute pubblica, soprattutto se si considerano le sequele che determinano. Fonti di contaminazioni più comuni sono le carni bovine e suine. Alla luce di quanto precedentemente descritto, abbiamo ritenuto interessante effettuare un monitoraggio per valutare la prevalenza di *E. coli* STEC in due macelli della provincia di Napoli. Il campionamento, che si è prolungato per 10 settimane, interessava settimanalmente 5 capi bovini ed altrettanti suini e prevedeva l'utilizzo di 4 spugne abrasive per capo. La ricerca è stata condotta applicando la UNI CEN ISO/TS 13136:2013 e contestualmente i kit iQ-Check STEC VirX e SerO (Bio-Rad). Come previsto dal Reg. 2073/05 e s.m.i., ogni carcassa è stata sottoposta a campionamento non-distruttivo mediante l'utilizzo di spugne abrasive disidratate (35x75mm-Sponge-Bag PBI), inumidite con soluzione salina isotonica (Praxisdienst). Il prelievo, eseguito secondo la ISO 17604:2015, interessava un'area di circa 100 cm<sup>2</sup> per sito di campionamento e veniva effettuato alla fine delle operazioni di macellazione, prima della fase di raffreddamento su: guancia, pancetta, lombo e prosciutto (suini) e su: collo, punta del petto, pancia e scamone (bovini). Il DNA è stato estratto da 1 ml di brodocoltura utilizzando la resina InstaGene Matrix (BioRad). I target molecolari associati alla virulenza (stx1; stx2; eaE) e al sierotipo (O157; O26; O103; O145; O111) sono stati ricercati, in contemporanea, applicando la metodica ISO e i kit del commercio (iQ-Check STEC VirX e SerO - Bio-Rad). L'isolamento prevedeva l'utilizzo di 4 differenti terreni di coltura: SMAC, CT-SMAC, TBX e Mac Conkey senza sale. Le colonie con caratteristiche morfologiche tipiche venivano identificate mediante *Real-Time* PCR. Nella prima fase di screening in *Real-Time*, su un totale di 50 carcasse di suino, 23 sono risultate positive per stx1 e/o stx2; inoltre, il sierogruppo maggiormente isolato è risultato O145 (14/23) seguiti dai sierogruppi O111 (4/23), O26 (3/23), O157 (2/23) e O103 (2/23). Il punto di prelievo maggiormente contaminato è risultato la pancetta con la presenza dei 5 sierogruppi con una maggiore incidenza di O145 (n=9). I campioni risultati positivi alla prima fase di screening sono stati sottoposti ad un successivo esame culturale che ha portato all'isolamento di ceppi patogeni in 5 carcasse e su 50, di questi l'unico sierogruppo isolato è stato O157 (n=2). Il controllo sulle carcasse bovine, in fase di screening, ha evidenziato 20 positività per stx1 e/o stx2; i sierogruppi maggiormente individuati sono stati O145 (n=8), O26 ed O157 (n=4). Otto isolati non rientravano in nessuno dei 5 sierotipi indicati nella ISO. L'analisi microbiologica ha portato all'isolamento di 9 ceppi, distribuiti uniformemente sui 4 punti di prelievo e all'identificazione di 2 O-tipi: O157 (n=3) e O145 (n=2) e quattro isolati negativi ai sierogruppi indagati. Il confronto tra la ISO ed i kit iQ-Check STEC hanno mostrato una concordanza del 100%. I dati ottenuti in questo studio hanno dimostrato che la prevalenza di VTEC su carcasse bovine è in linea con quanto riportato in

bibliografia, mentre è considerevolmente maggiore quella riscontrata nei suini.

## P018

**Valutazione dell'igiene di macellazione di suini e bovini effettuata mediante campionamento non distruttivo: dati preliminari**

Daniela Cristiano<sup>1\*</sup>, Yolande Thérèse Rose Proroga<sup>1</sup>, Silvia Castellano<sup>1</sup>, Giacomo Peres<sup>2</sup>, Antonio Di Maio<sup>2</sup>, Debora Cozza<sup>1</sup>, Immacolata La Tela<sup>1</sup>, Federico Capuano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Ispezione Alimenti IZS Mezzogiorno, Portici (NA); <sup>2</sup>ASL Napoli 2 Nord, Dipartimento di Prevenzione Servizio Veterinario, Igiene degli Alimenti O.A., Casavatore (NA), Italia

Il Reg. (CE) 2073/2005 e s.m.i. prevede la valutazione dell'igiene di macellazione attraverso controlli periodici delle sessioni di lavorazione (ISO 17604:2015). Per questa ricerca sono stati analizzati 50 suini e 47 bovini macellati in 2 macelli della provincia di Napoli. Per ogni carcassa sono stati effettuati 4 prelievi, come da Norma, utilizzando spugne abrasive. I risultati ottenuti dalla valutazione dei criteri d'igiene (UNI EN ISO 21528-2:2017 per la conta di *Enterobacteriaceae*, UNI EN ISO 4833-1:2013 per la conta dei batteri mesofili, e AFNOR BRD 07/06-07/04 per la ricerca di *Salmonella* spp) hanno mostrato valori compresi tra 1,6 e 7,77 log UFC/cm<sup>2</sup> per la carica mesofila, e tra 0,6 e 5,48 log UFC/cm<sup>2</sup> per le *Enterobacteriaceae*. Complessivamente sono stati isolati 58 ceppi di *Salmonella*, 29 dalle carcasse di suino e altrettanti da quelle di bovino. I ceppi di *Salmonella* sono stati tipizzati mediante ISO/TR 6579-3:2014 e ne è stata valutata l'antibiotico resistenza col metodo Kirby-Bauer. Il sierotipo di più frequente riscontro è stato *S. Derby*, con 11 ceppi da 6 carcasse di suino e 19 ceppi da 5 carcasse bovine. Inoltre dalle carcasse di suino abbiamo isolato: *S. Anatum* (9 ceppi da 6 carcasse), *S. Goldcoast* (4 ceppi da 4 carcasse), *S. Rissen* (2 ceppi in 2 carcasse), *S. Typhimurium* (2 ceppi da 2 carcasse) ed infine un solo ceppo di *S. I 16:liv:-*. Dalle carcasse bovine la variante monofasica di *S. Typhimurium* (8 ceppi da 3 carcasse) e 2 ceppi di *S. Brandenburg* da 2 mezzene. Tutti gli isolati, ad eccezione di *S. Typhimurium*, mostravano profili di antibiotico resistenza identici in relazione al sierotipo. Particolarmente elevato risulta il numero delle *Salmonelle* multidrug-resistant (75%). I punti di campionamento risultati contaminati da *Salmonella* con maggiore frequenza, sono stati: per i suini la punta petto (30%) e per i bovini il lombo (19%). Le carcasse di suino positive per *Salmonella* mostravano valori di carica mesofila significativamente superiori rispetto alle carcasse non contaminate (5,78 log UFC/cm<sup>2</sup> verso 1,95 log UFC/cm<sup>2</sup>). La stessa comparazione effettuata nei riguardi della presenza di Enterobatteri conferma tale osservazione ma con minore significatività del dato (1,51 log UFC/cm<sup>2</sup> verso 1,21 log UFC/cm<sup>2</sup>). I risultati evidenziano che la carica mesofila sembra essere indicativa della probabilità di rilevare contaminazioni da *Salmonella*. In particolare, il rischio di contaminazione da *Salmonella* in carcasse con carica mesofila superiore a 3,0 log UFC/cm<sup>2</sup> risulta essere di oltre 5 volte maggiore rispetto alle carcasse con carica mesofila inferiore a 3,0 log UFC/cm<sup>2</sup> (OR=5,7; P<0,00005). Questa indagine, che necessita di ulteriori approfondimenti finalizzati anche a valutare l'incidenza della stagione sui livelli di contaminazione batterica, mette in luce situazioni di igiene di lavorazione nei due macelli controllati meritevoli di interventi migliorativi.

## P019

## POSTER RITIRATO

## P020

**Valutazione del profilo microbiologico e chimico in un impianto pilota per la coltivazione di spirulina**

Pierina Visciano<sup>1</sup>, Maria Schirone<sup>1\*</sup>, Gabriella Di Serafino<sup>2</sup>, Matteo Moglie<sup>3</sup>, Antonello Paparella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, <sup>2</sup>Specialista in Sanità Animale, Allevamento e Produzioni Zootecniche, Università degli Studi di Teramo; <sup>3</sup>Facoltà di Ingegneria, Università degli Studi e-Campus, Novedrate (CO), Italia

La coltivazione delle microalghe ha recentemente attratto l'attenzione mondiale dei ricercatori per la produzione di composti bioattivi, quali pigmenti, oligoelementi, vitamine, lipidi tra cui acidi grassi polinsaturi, carboidrati e proteine. La classificazione delle microalghe comprende sia organismi procarioti (cianobatteri) che eucarioti, unicellulari o multicellulari, e tra le specie appartenenti ai cianobatteri rientra *Athrospira platensis*, comunemente nota come Spirulina. Questa microalga rappresenta una risorsa alimentare emergente per le sue proprietà antiossidanti, probiotiche e nutraceutiche ma trova anche impiego nell'industria farmaceutica, cosmetica e nel trattamento delle acque reflue. Tra gli effetti benefici sulla salute umana sono riportati l'azione energetica e di sostegno, riduzione dello stress, prevenzione nei confronti di alcune malattie quali diabete e depressione, ed effetti ipocolesterolemici, antivirali e anticancerogeni. In questo studio è descritto un impianto pilota per la produzione di spirulina. Il processo di produzione prevede quattro fasi: preparazione del terreno di coltura, coltivazione, raccolta ed essiccamento. La prima fase avviene in serbatoi chiusi in cui un mix di nutrienti (nitrati, fosfati e microelementi), ottimizzato per la crescita di spirulina, viene aggiunto all'acqua. Il mezzo, così preparato, è inviato mediante una pompa al fotobioreattore (PBR). Il PBR usato è di tipo tubolare, in vetro, con un volume totale di 40 m<sup>3</sup>. È suddiviso in 6 moduli indipendenti, completamente climatizzati e provvisti di illuminazione artificiale. Una volta introdotto l'inoculo di spirulina nel mezzo fresco, la microalga viene fatta ricircolare nel PBR per un tempo variabile a seconda dei parametri di crescita. Raggiunte le opportune condizioni, parte del contenuto del PBR è prelevato e inviato alla fase di raccolta. La raccolta è realizzata mediante un vibrovaglio, ossia un macchinario che separa la spirulina dalla fase liquida. La fase liquida viene fatta ricircolare nel PBR, mentre la microalga viene inviata all'essiccamento, effettuato a 50°C per alcune ore. Una volta essiccata, la spirulina è polverizzata e imbustata. Per la valutazione della qualità igienico-sanitaria della spirulina sono state effettuate le seguenti determinazioni microbiologiche: carica mesofila aerobia a 30°C (UNI EN ISO 4833-1:2013), *Enterobacteriaceae* (UNI ISO 21528-2:2010), *Escherichia coli* beta-glucuronidasi positivi a 37°C (AFNOR BRD 07/7-12/04), *Salmonella* spp. (*Real-Time* PCR), lieviti e muffe totali (ISO 21527-2:2008), mentre per il profilo chimico è stata valutata la presenza di cadmio, piombo e mercurio. I risultati di questa indagine preliminare hanno evidenziato una carica mesofila aerobia pari a 3,1x10<sup>2</sup> ufc/g, lieviti e muffe <1,0x10<sup>2</sup> ufc/g, *Enterobacteriaceae* ed *E. coli* <1,0x10 ufc/g, *Salmonella* spp. assente in 5 g. Per quanto riguarda i metalli pesanti, cadmio e mercurio erano inferiori al limite di rilevabilità del metodo (0,002 e 0,01 mg/kg, rispettivamente) mentre il piombo era presente alla concentrazione di 0,098 mg/kg. Tali risultati confermano la possibilità di progettare lo scale-up della coltivazione della spirulina dall'impianto pilota alla scala industriale.

## P021

**Evoluzione delle caratteristiche microbiologiche e chimico-fisiche in *Longissimus dorsi* di scottona marchigiana durante un processo di dry aging in condizioni controllate**

Maria Schirone<sup>1\*</sup>, Pierina Visciano<sup>1</sup>, Maria Martuscelli<sup>1</sup>, Maurizio De Benedictis<sup>2</sup>, Antonello Paparella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo; <sup>2</sup>Biologo Libero Professionista, Teramo, Italia  
La frollatura della carne è un processo naturale di maturazione a opera di enzimi di origine tissutale che conferisce al muscolo maggiore palatabilità, tenerezza e succosità. Nel processo noto come *dry aging* (frollatura a secco), le carcasse o i tagli anatomici non confezionati sono appesi o distesi in una cella frigorifera a temperatura di 0-4°C e umidità relativa intorno a 75% per un periodo da 2 a 8 settimane o oltre, dopo la macellazione. Scopo di questo studio è stata la valutazione dell'evoluzione delle caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali in campioni di *Longissimus dorsi* di scottona marchigiana (classe U2 secondo la classificazione SEUROP) sottoposti a *dry aging* con metodo Cuomo® in un impianto di microclimatizzazione a regolazione elettronica, analizzati ai seguenti tempi sperimentali: T0 (subito dopo la macellazione), T1 (15 gg), T2 (30 gg) e T3 (45 gg). Le analisi microbiologiche hanno riguardato: carica mesofila aerobia a 30°C (ISO 4833-1:2013), *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-2:2017) e *Salmonella* spp. (AFNOR BKR 23/07-10/11). Sono state inoltre effettuate analisi fisiche (cooking loss) e chimico-fisiche (pH, aw) e, mediante uno spettrocolorimetro da banco, sono stati valutati i parametri colorimetrici, riportati come L\*, a\* e b\* (CIELAB), C\* e h\* (CIE L\*C\*h\*). Le differenze di colore nel tempo sono state determinate mediante il calcolo del E. Infine la tenerezza della carne è stata valutata mediante analisi dinamometrica, con un test di taglio, sul prodotto crudo e dopo cottura. La valutazione della qualità della carne cotta, nel corso della maturazione, è stata anche oggetto di test sensoriale (panel test, con punteggio da 1 a 5 per i descrittori di succulenza e facilità alla masticazione). Le determinazioni microbiologiche hanno evidenziato un incremento in proporzione al tempo di frollatura sia per la carica mesofila aerobia da 4,4x10<sup>4</sup> (T0) a 6,1x10<sup>7</sup> ufc/g (T3) che per *Enterobacteriaceae* da <10 (T0) a 4,8x10<sup>3</sup> ufc/g (T3). *Salmonella* spp. è risultata sempre assente in 25 g. I valori di pH e aw variavano da 5,18 (T0) a 5,81 (T3) e da 0,98 (T0) a 0,93 (T3), rispettivamente. L'effetto dei fenomeni chimico-fisici avvenuti nel corso della frollatura è stato particolarmente evidenziato dalle analisi di texture sulla carne cotta: sono stati registrati valori della Forza di taglio (N) sul campione all'inizio dell'osservazione (T0) e a fine periodo (T3) pari a 158±15 e 85±25 N, rispettivamente, con una riduzione statisticamente significativa del 50% circa. I dati strumentali sono risultati ben correlati al significativo aumento della succulenza (da 2 a 5) e della facilità alla masticazione (da 3 a 5), osservati mediante l'analisi sensoriale. Anche la valutazione della cooking loss (a T0: 37% e a T45: 31%) ha mostrato un significativo miglioramento indotto dalla maturazione, alle condizioni sperimentali adottate. Tale risultato, in linea con i dati riportati da altri autori su carni bovine dry-aged, può essere verosimilmente attribuito al minore contenuto di umidità del muscolo, causato dalla prolungata evaporazione e dimostrato dalla marcata riduzione della aw. In conclusione i risultati ottenuti dalle analisi chimico-fisiche hanno dimostrato un evidente effetto positivo delle condizioni di frollatura sulla tenerezza e succulenza della carne, mentre quelle microbiologiche confermano che il prolungamento dei tempi di frollatura, sia pure in condizioni controllate, determina un marcato incremento della carica di microorganismi con un potenziale impatto sulla *shelf-life* del prodotto.

## P022

### One-step digital PCR e one-step real-time PCR a confronto per la rilevazione di virus enterici a trasmissione alimentare sulle superfici a contatto con alimenti

Lucia Mangeri\*, Roberto Benevenia, Elisa Galuppini, Michela Tilola, Francesca Meletti, Barbara Bertasi

IZSLER - Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia, Reparto Controllo Alimenti, Italia

Il controllo della presenza dei virus enterici negli alimenti è eseguito routinariamente con il metodo UNI CEN ISO/TS 15216:2013; i virus ricercati sono HAV (Hepatitis A Virus) e *Norovirus*, principali responsabili di malattie a trasmissione alimentare. Il campo di applicazione della norma non include i tamponi ambientali, ma le contaminazioni degli alimenti possono avvenire anche per contaminazione secondaria. Le basse concentrazioni di virus veicolati dagli alimenti o presenti sulle superfici sono sufficienti a causare malattia e sono in grado di resistere ai trattamenti di pulizia e disinfezione. La capacità di rilevazione dei virus sulle superfici può essere utile per stabilire correlazioni tra fonte di contaminazione e malattia. Risulta pertanto necessario un metodo ad elevata sensibilità, quale la digital PCR (dPCR), in grado di rilevare virus sulle superfici, sfruttando anche tamponi che recuperino e rilascino virus in modo più efficace rispetto ai sistemi maggiormente utilizzati (evidenza in ambito clinico per batteri). A tale scopo sono state approntate prove preliminari in sospensione e su differenti superfici per la rilevazione, in dPCR e *Real-time* PCR, dei virus in oggetto utilizzando due tipi di tamponi: convenzionali in cotone e floccati in nylon. Sospensioni seriali da  $10^0$  a  $10^4$  TCID<sub>50</sub>/mL di HAV (ATCC HM-175) e di ceppi di campo di *Norovirus* GI e GII sono state utilizzate per le prove di confronto in dPCR e in *Real-time* PCR tra due tipologie di tamponi, quelli convenzionali in cotone (COTO-SWAB®, Citotest Labware Manufacturing CO) e quelli floccati in nylon (FLOQSwabs™, Copan Italia S.p.A.). Le medesime sospensioni sono state utilizzate per la contaminazione di tre tipologie di superficie: acciaio, plastica e legno. Un inoculo di 1 mL di ciascuna sospensione è stato distribuito su una superficie di 100 cm<sup>2</sup> e lasciato asciugare per 60', quindi recuperato con le due tipologie di tampone e previa o meno immersione in soluzione fisiologica (bagnato o asciutto). Tali campioni recuperati sono stati lasciati in 1 mL rispettivamente di soluzione fisiologica e di tampone di rilascio (eNAT™, Copan Italia S.p.A.) per almeno 15', quindi 500 µL sono stati sottoposti ad estrazione degli acidi nucleici con il sistema BioMérieux NucliSENS® (BioMérieux SA). L'esecuzione della *Real-time* PCR è stata effettuata in accordo al documento ISO 15216 e su strumento CFX96™ *Real-Time* System (Bio-Rad). La dPCR è stata eseguita mediante strumento QuantStudio 3D (Life Technologies) con kit RNA Ultrasense qRT-PCR System (Invitrogen) (55°C x 60'; 96°C x 10'; 60°C x 2', 98°C x 30", 60°C x 2' - 45 cicli) utilizzando i medesimi primer e sonda della ISO per HAV, mentre le condizioni di reazione per *Norovirus* sono quelle indicate da S. Persson *et al.*, IJFM, 284 (2018) 73-83. Dai risultati preliminari ottenuti sulle sospensioni si evidenzia come la dPCR necessita di una messa a punto per poter essere adeguatamente confrontabile con la metodica consolidata in *Real-time* PCR; in particolare si ritiene necessario valutare differenti tipologie di sonda che consentano una migliore sensibilità e quantificazione. Inoltre, risultati promettenti sono stati ottenuti per tutti i virus indagati e per tutte le superfici testate, con la combinazione tamponi floccati in nylon bagnati prima

del recupero dalla superficie e apposito tampone di trasporto e rilascio.

## P023

### Etichette ingannevoli? Alcune riflessioni

Enrico Novelli\*, Luca Fasolato, Federico Fontana, Lisa Carraro, Barbara Cardazzo, Stefania Balzan

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

Le indicazioni non obbligatorie presenti sulle etichette alimentari sovente traggono in inganno i consumatori, persuasi all'acquisto del prodotto dalle proprietà vere o presunte. Scopo del lavoro è la comprensione delle caratteristiche che il consumatore attribuisce agli alimenti preimballati in commercio che riportano in etichetta i termini fatto a mano, artigianale, tradizionale o lavorato secondo tradizione. La raccolta dei dati è avvenuta utilizzando un questionario online diffuso via social network; le scale Likert sono state usate per rilevare il grado di accordo (1: completamente in disaccordo; 5: completamente in accordo) degli intervistati con le caratteristiche proposte in riferimento ai termini in oggetto. I dati sono riportati come frequenza. Il campione (n. 320) è costituito da italiani (98%), di cui il 69% femmine e per il 41% con titolo di studio superiore che reputano le etichette alimentari utili (82%) e importante l'indicazione del metodo di produzione (83%). Gli alimenti fatti a mano sono costosi (80,4%), buoni (68,5%), freschi, genuini e sani (58,2; 58,7 e 54,4%), senza conservanti (41,3%), con pochi ingredienti (44%) ma la maggior parte degli intervistati (47,3%) non sa decidere sulla sicurezza alimentare. Quelli artigianali sono costosi (74,1%), buoni (68,5%), con scadenza breve e genuini (58,9 e 57,9%), freschi, con pochi ingredienti e senza conservanti (49,8; 45,7 e 41,6%). Sulla sicurezza alimentare il campione è diviso tra incerti e convinti (43,2 e 40,1%) come per l'attributo sano (45,2 e 42,6%). Gli alimenti tradizionali sono costosi (66,3%), freschi, genuini e con pochi ingredienti (48,8; 47,1 e 40,7%) mentre per altre caratteristiche vi è maggior incertezza: il 36,6% li reputa sicuri ma il 33,1% è incerto, sono sani per il 36,6% a fronte di un 44,8% incerto; infine vi è divisione anche sulla scadenza breve, vera per il 32,6%, mentre il 34,9% è incerto. Gli alimenti industriali non sono considerati genuini e sani (64,8 e 59,6%), sono costituiti da molti ingredienti (68,1%) e conservanti (78,4%), economici (43,2%), comunque buoni (45,1%). Sicuri per il 41,3% ma il 30,5% non li considera tali. Gli alimenti industriali sono sicuramente prodotti con sistemi automatizzati (75,6%), non lo sono quelli artigianali e fatti a mano per il 49,2 e il 65,8% rispettivamente, permane l'incertezza per i tradizionali (47,1%). Se l'etica non è una caratteristica tipica dell'industria per il 62,4%, per le altre tipologie il campione tende a non essere in grado di decidere. Il campione sembra avere un'idea abbastanza precisa della superiorità organolettica e qualitativa degli alimenti artigianali, fatti a mano e tradizionali anche se per questi vi è maggiore difficoltà a caratterizzarli e, in generale, a prendere una posizione sulla sicurezza alimentare. Il campione identifica come industriali principalmente bibite, succhi di frutta e prodotti da forno. Benchè vi sia una precisa definizione di prodotti agroalimentari tradizionali e il ministero dell'industria del commercio (Circ. 10 novembre 2003, n. 168) abbia disciplinato le condizioni per l'uso di 'produzione artigianale' e 'lavorato a mano' ribadendo che non devono essere un elemento di garanzia di qualità organolettica, nutritiva o sanitaria superiore, analogamente ad altri termini (es. naturale) è necessaria una migliore definizione dei termini analizzati e un incremento nel controllo delle pratiche di etichettatura.



## P024

**Isolamento e identificazione di *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella* spp. da vegetali di IV gamma**

Alessandra Cornacchia<sup>1\*</sup>, Maria Antonietta Saletti<sup>1</sup>,  
Violeta Di Marzio<sup>1</sup>, Gabriella Centorotola<sup>1</sup>, Cristina Marfoggia<sup>1</sup>,  
Domenico Galante<sup>2</sup>, Francesco Pomilio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale",  
Teramo; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata,  
Foggia, Italia

Scopo: I prodotti vegetali freschi pronti al consumo sono alimenti biologicamente dinamici soggetti ad interventi tecnologici ridotti, utilizzabili per il consumo diretto con manipolazioni minime e, quindi, l'aspetto igienico-sanitario ricopre un'importanza fondamentale. L'assunzione di vegetali di IV gamma pronti al consumo ha subito un considerevole aumento negli ultimi anni, dovuto ai cambiamenti degli stili di vita sempre più frenetici. I vegetali di IV gamma rientrano nella definizione di "prodotti potenzialmente pericolosi", in quanto presentano condizioni che, in alcuni casi, consentono lo sviluppo di microrganismi alterativi e patogeni. Tra le varie cause che possono portare alla contaminazione dei prodotti, oltre al suolo, alle deiezioni degli animali domestici o selvatici e al confezionamento inappropriato, la fonte di contaminazione più frequente è rappresentata dall'acqua di irrigazione, veicolo di microrganismi patogeni enterici per l'uomo. A questa eventuale contaminazione microbica primaria spesso si aggiungono le inadeguate temperature di conservazione. Lo scopo del nostro studio è stato l'isolamento di batteri del genere *Klebsiella* spp. e, in particolare, *Klebsiella pneumoniae* in vegetali confezionati di IV gamma. *K. pneumoniae* è responsabile di infezioni urinarie, sepsi e altre infezioni nosocomiali e mostra un aumento nelle percentuali di resistenza alle cefalosporine di 3a generazione, fluorochinoloni ed aminoglicosidi, resistenze che sono spesso combinate tra loro generando batteri multi-resistenti. Negli ultimi anni tra le resistenze si è aggiunta anche quella ai carbapenemi che può rendere l'infezione ancora più difficile da trattare. Metodi: Sono stati esaminati 60 campioni di vegetali di IV gamma (insalate, lattughe, rucola, spinaci, mix di verdure, radicchio ecc.) pronte per essere consumate. I batteri sono stati isolati dapprima in brodo di arricchimento (acqua peptonata tamponata), incubato a 37°C e a 44°C per 24 ore; il brodo è stato poi seminato su agar selettivo SCAI (IZSAM) con inositolo 10%, incubato a 37 e a 44°C per 48 ore. Le colonie tipiche e sospette sono state successivamente seminate su agar nutritivo (Microbiol & C., Cagliari, Italia), incubate per 24 ore a 37°C e successivamente sottoposte ad identificazione mediante spettrometria di massa con tecnologia MALDI-TOF (Bruker Daltonik, Bremen, Germany). Risultati: Complessivamente sono risultati positivi 16 campioni per *Klebsiella* spp. e 4 per *K. pneumoniae* (10 ceppi), dai campioni positivi sono stati isolati 107 ceppi, *K. oxytoca* (19 ceppi), *K. variicola* (20 ceppi), *Raoultella ornithinolytica* (37 ceppi), *Raoultella planticola* (5 ceppi), *Acinetobacter calcoaceticus* (3 ceppi), *Acinetobacter pittii* (1 ceppo), *Pseudomonas putida* (1 ceppo) e *Pantoea septica* (3 ceppi), *Enterobacter cloacae* complex (7 ceppi), *Enterobacter aerogenes* (1 ceppo). Conclusioni: I risultati ottenuti confermano la contaminazione dei vegetali di IV gamma da parte di batteri del genere *Klebsiella* spp. e, in particolare di *K. pneumoniae*. Sono in corso studi per determinare lo spettro di sensibilità agli antibiotici dei ceppi isolati al fine di individuare la possibile trasmissione di ceppi antibiotico resistenti ai consumatori mediante l'assunzione di vegetali di IV gamma. Altresì bisogna aggiungere che la corretta identificazione dei batteri appartenenti al genere *Klebsiella* spp. e a *K. pneumoniae* può essere oggi effettuata esclusivamente con tecnologia MALDI-TOF.

## P025

**Contaminazione ambientale da *Listeria monocytogenes* e *Klebsiella* spp. in stabilimenti di produzione alimentare**

Violeta Di Marzio\*, Salvatore Antoci, Vicdalia Acciari,  
Gabriella Centorotola, Cristina Marfoggia, Alessandra Cornacchia,  
Maria Antonietta Saletti, Francesco Pomilio

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

Lo scopo del lavoro riportato è stato quello di verificare l'efficacia delle procedure di pulizia e disinfezione utilizzate da tre aziende di produzione di alimenti nei confronti di *L. monocytogenes* e di *Klebsiella* spp. in Abruzzo e Molise. Presso un caseificio (Azienda A) e due salumifici (aziende B e C) sono stati prelevati tamponi ambientali post disinfezione operativa. Le attività di campionamento sono state eseguite nelle diverse aree di produzione, sia superfici a contatto (FCS) che superfici non a contatto (NFCS). Sono stati sottoposti a campionamento 900 cm<sup>2</sup>, nel caso di superfici di piccole dimensioni è stata campionata l'intera superficie. I campioni sono stati prelevati con sponge bag (Nasco, Fort Atkinson, Wisconsin, USA) idratate con 10 ml di Dey-Engley neutralizing broth (Oxoid Limited Wade Road Basingstoke Hampshire RG24 8PW United Kingdom) prima del prelievo. Per la ricerca di *L. monocytogenes* è stato utilizzato il metodo USDA/FSIS MLG 8.10\_2017, per la ricerca di *Klebsiella* spp. il tampone è stato posto in BPW (IZSAM) per 24 ore a 37°C, il brodo seminato su due terreni selettivi e differenziali, incubati a 37°C per 48 ore: Scai Agar (IZSAM) e Chromatic *Klebsiella* agar (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italy). Per ciascun campione positivo, sono state selezionate 5 colonie sulle quali sono state eseguite: catalasi, ossidasi ed emolisi e caratterizzazione col sistema miniaturizzato VITEK (Biomerieux, France). Sono stati prelevati complessivamente 96 tamponi di cui 25 FCS e 71 NFCS. Complessivamente sono risultati positivi 10 campioni per *L. monocytogenes*, e 7 campioni per *Klebsiella oxytoca*. I ceppi di *L. monocytogenes* isolati da i campioni positivi sono stati sottoposti a caratterizzazione molecolare mediante determinazione sierogruppo; PFGE protocollo PulseNet e sequenziamento in Next Generation Sequencing (NGS). Le Sequenze sono state sottoposte a determinazione del CC in silico analysis sulla piattaforma dell'Istituto Pasteur (<https://bigsd.bacter.wisc.edu/>) per la ricerca dei loci "Metal and Detergent Resistance". Complessivamente sono stati sottoposti alla determinazione del pulsotipo 11 ceppi (di cui 9 nello stabilimento C). L'analisi dei ceppi isolati nello stabilimento C ha permesso di ottenere 6 differenti pattern. Tre ceppi isolati da tre punti di prelievo diversi sono risultati correlati al 100% con profilo PFGE GX6A12.0047\_GX6A16.0024 e Clonal complex CC5. Nello stabilimento C tre ceppi isolati in 3 punti di prelievo diversi, sono risultati correlabili al 100% con profilo GX6A12.0062\_GX6A16.0048 e Clonal complex CC8. Entrambi i ceppi isolati dallo stabilimento A e B appartenevano al Clonal Complex CC9. I restanti due ceppi dello stabilimento C appartenevano al CC9, mentre 2 ceppi (11.1.&) ad un CC non assegnato. Mediante la ricerca dei loci "Metal and Detergent Resistance" sulla piattaforma dell'Istituto Pasteur (<https://bigsd.bacter.wisc.edu/>), solo un ceppo riscontrato nello stabilimento C (nel punto di prelievo 3 Bilancia) con clonal complex non assegnato ha dimostrato possedere il transposone Tn6188 responsabile della tolleranza al cloruro di benzalconio. I risultati hanno dimostrato che le procedure di pulizia e disinfezione messe in atto nelle tre aziende oggetto dello studio non sono efficaci e in grado di eliminare i due batteri target, pertanto devono essere modificate e verificata la loro efficacia.



P026

### Trascinamento di *Listeria monocytogenes* durante le operazioni di taglio manuale di forme di formaggio gorgonzola

Diana Neri\*, Gabriella Centorotola, Patrizia Tucci, Giacomo Migliorati, Francesco Pomilio

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

Scopo dello studio è stato valutare il trasferimento di *Listeria monocytogenes* (Lm) durante il taglio di gorgonzola, dalla crosta contaminata alla superficie di taglio della fetta, utilizzando una taglierina a filo. La crosta è stata sottoposta a trattamento con alte pressioni (HPP) a 6000 bar per 10 minuti, al fine di decontaminarla. Successivamente sono state preparate due sospensioni contaminanti a diversa concentrazione di Lm secondo le procedure descritte in "EURL Lm *Technical Guidance Document for conducting shelf-life studies on Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods*". I ceppi impiegati sono stati: IZSAM 479/2ATQ isolato da Gorgonzola; ATCC 7644 da collezione internazionale e il ceppo 12MOB118LM da collezione EURL. La contaminazione è stata eseguita utilizzando carta assorbente, secondo le modalità riportate da Tucci *et al.*, (2018). Dopo il contatto con la carta assorbente le forme sono state asciugate in cappa a flusso laminare per 10 minuti e poi per 24h in celle refrigerate a 4°C. Sono state contaminate nove forme per ciascuna sospensione batterica preparata, in modo da effettuare i prelievi dopo uno fino a 32 tagli consecutivi. Lo strumento impiegato per il taglio è stato una taglierina manuale a filo, in acciaio, che ha permesso di dividere la mezza forma di gorgonzola, posizionata su un piatto rotante in polietilene, in 16 porzioni angolari. Per valutare la contaminazione del filo, lo stesso è stato diviso in due porzioni con segno indelebile, in modo da eseguire il prelievo con tamponi di garza sterile separatamente ad un numero di passaggi progressivo. Dopo ciascun prelievo, il filo è stato disinfettato con perossido di idrogeno al 30%, azzerrandone il numero di passaggi. Per valutare la contaminazione della superficie di taglio delle fette, ad ogni passaggio è stato annotato il numero di passaggi per una faccia di ciascuna fetta ed eseguito il prelievo mediante raschiamento superficiale. La numerazione di Lm è stata eseguita secondo la procedura di laboratorio USDA FSIS MLG Appendix 2.03 (2008), i risultati sono stati espressi: per il filo in log<sub>10</sub>MPN/cm e per la superficie di taglio in log<sub>10</sub>MPN/cm<sup>2</sup>. La concentrazione di Lm delle sospensioni contaminanti è stata di 6.48 e 5.46 log<sub>10</sub>UFC/ml, ottenendo sulle croste concentrazioni rispettivamente di 3.61 e 3.19 log<sub>10</sub>MPN/cm<sup>2</sup>. Complessivamente, per ogni sospensione contaminante, sono stati eseguiti 32 tamponi sul filo (dal taglio 1 al 32) e 31 prelievi su superficie di taglio della fetta (dal taglio 1 al 31). La media geometrica della concentrazione di Lm rilevata sul filo è stata rispettivamente 1.86 log<sub>10</sub>MPN/cm e 1.45 log<sub>10</sub>MPN/cm per le due sospensioni contaminanti. La media geometrica della concentrazione di Lm rilevata sulla superficie di taglio della fetta è stata rispettivamente 0.96 and 0.037 log<sub>10</sub>MPN/cm<sup>2</sup>. Il filo è risultato contaminato ad ogni prelievo, e tutte le fette sono risultate contaminate da Lm al passaggio del filo durante il taglio. Si è osservato, inoltre, che il livello di contaminazione del filo e della superficie di taglio delle fette non è aumentato all'incremento del numero di passaggi dello stesso sulla crosta.

P027

### Risultati preliminari dell'indagine sulla temperatura dei frigoriferi domestici in Abruzzo e Molise

Salvatore Antoci<sup>1\*</sup>, Francesco Pomilio<sup>1</sup>, Giorgio Galletti<sup>2</sup>, Nicoletta Vitale<sup>3</sup>, Stefania Calò<sup>2</sup>, Silvia Todeschi<sup>2</sup>, Cristina Marfoggia<sup>1</sup>, Daniela D'Angelantonio<sup>1</sup>, Giacomo Migliorati<sup>1</sup>, Paolo Daminelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", Brescia; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta "I. Altara", Torino, Italia

Tutti gli alimenti, in particolar modo quelli pronti al consumo Ready to eat (RTE), vengono conservati all'interno dei frigoriferi domestici e quindi la temperatura di conservazione svolge un ruolo sulla sicurezza igienico-sanitaria degli alimenti. Nell'ambito di un progetto di ricerca finanziato dal Ministero della Salute, e realizzato dalla rete nazionale degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali, coordinati dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", è stata prevista la rilevazione della temperatura dei frigoriferi domestici in Italia. Scopo del presente lavoro è quello di presentare i risultati preliminari delle temperature rilevate nei frigoriferi domestici delle famiglie delle Regioni Abruzzo e Molise. L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" ha raccolto nel periodo compreso luglio - dicembre 2018, le adesioni di famiglie disponibili su base volontaria utilizzando la rete sociale (colleghi, conoscenti, parenti e amici). È stato previsto il reclutamento di 662 famiglie in Abruzzo e 157 in Molise. Sono stati utilizzati data logger thermo button (Alpha Mach Inc. Bombardier Sainte-Julie, Canada) in grado di rilevare e registrare in continuo la temperatura. Per la lettura dei dati memorizzati è stato utilizzato software Thermotrack PC V 8 (Proges Plus Lille - Lyon - Nantes, France). I thermo button sono stati sottoposti a taratura secondo il sistema interno di qualità. Le sonde sono state collocate nel frigorifero entro 24 ore dalla consegna, segnalando data ed ora di inserimento al momento della compilazione dell'apposito questionario predisposto. La sonda identificata con A è stata posizionata nel ripiano in alto del frigorifero, la sonda identificata con B nel ripiano in basso, sopra il cassetto per la frutta/verdura. La sonda identificata con C nel ripiano/scomparto al centro della porta del frigorifero. La sonda identificata con E all'esterno del frigorifero, il più possibile vicino ad esso. Ogni famiglia è stata campionata per una settimana una sola volta, per complessivi 7 giorni, di cui 5 feriali (da lunedì a venerdì) e 2 festivi (sabato e domenica). Nel questionario anonimo sono state raccolte le informazioni riguardanti le famiglie campionate: età dell'intervistato, componenti del nucleo familiare. Sono state reclutate complessivamente 844 famiglie (687 Abruzzo e 157 Molise), da cui sono state estratte per l'esecuzione dei campionamenti 17 famiglie in Abruzzo e 4 in Molise nell'arco di un anno. La rilevazione della temperatura è stata eseguita su 6 famiglie in Abruzzo e in 2 in Molise nel periodo compreso tra gennaio e marzo 2019. È stata rilevata una temperatura media di 8.1°C, con una deviazione standard (sd) di 1.5°C. Le sonde posizionate nella parte alta del frigorifero hanno registrato una temperatura media di 7.5°C (sd 2.0), nella parte bassa 7.7°C (sd 2.1) e nella porta del frigorifero 9.1°C (sd 1.5). L'età media del rispondente al questionario era di 54.8 (range 40 - 84). Le famiglie campionate erano composte mediamente da 3 persone (range 1-6). Attualmente sono in corso i campionamenti delle famiglie selezionate. I dati raccolti serviranno a colmare le attuali carenze di dati relative al corretto grado

di conservazione degli alimenti in ambito domestico e, soprattutto, consentiranno di poter definire negli anni futuri una corretta valutazione della shelf life degli alimenti RTE.

## P028

### Qualità microbiologica di prodotti lattiero-caseari in un caseificio marchigiano

Antonello Paparella<sup>1</sup>, Maria Schirone<sup>1\*</sup>,  
Alberto Maria Aldo Olivastri<sup>2</sup>, Pierina Visciano<sup>1</sup>

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

La produzione lattiero-casearia italiana vanta un'ampia varietà di prodotti freschi e stagionati, la cui sicurezza igienico-sanitaria può essere compromessa sia dal microbiota del latte crudo che dai microrganismi derivanti da ambiente, attrezzature e personale. Nel presente studio sono stati analizzati prodotti lattiero-caseari ottenuti da un caseificio della regione Marche, per la determinazione di coliformi termotolleranti a 44°C (NF V 08-060:1996), coliformi totali a 37°C (ISO 4832:2006), *Escherichia coli* (ISO 16649-2:2001), *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-2:2017), lieviti totali (ISO 21527-1:2008), *Pseudomonas* spp. (ISO/TS 11059:2009), *Pseudomonas fluorescens* (*Pseudomonas* Agar Base), stafilococchi coagulasi positivi (UNI EN ISO 6888-2:2004), *Listeria monocytogenes* (UNI EN ISO 11290-1:2017) e *Salmonella* spp. (UNI EN ISO 6579-1:2017). Sono stati analizzati 128 campioni così ripartiti: mozzarella (n=40), ricotta (26), panna (19), burrata (14), scamorza (7), caciotta (6), mozzarella per pizzeria (6), straciatella (3), giuncata (3), pecorino (2), stracchino (1) e mascarpone (1). Il numero più elevato di campioni di mozzarella saggiati era dovuto al recente riscontro di pigmentazione blu in campioni di mozzarella prodotti nello stabilimento. Cariche microbiche relativamente elevate di coliformi totali, *Enterobacteriaceae* e lieviti sono state rilevate in 3 campioni di caciotta (C1 9,0x10<sup>2</sup>, 1,4x10<sup>2</sup> e 7,2x10<sup>2</sup> ufc/g; C2 2,0x10<sup>2</sup>, 1,7x10<sup>2</sup> e 9,1x10<sup>2</sup> ufc/g; C3 1,7x10<sup>2</sup>, 2,3x10<sup>2</sup> e 7,0x10<sup>2</sup> ufc/g, rispettivamente) e un pecorino (5,5x10<sup>2</sup>, 6,4x10<sup>2</sup> e 1,1x10<sup>3</sup> ufc/g, rispettivamente), *Enterobacteriaceae* e lieviti in un campione di caciotta (8x10<sup>2</sup> e 1,9x10<sup>2</sup> ufc/g, rispettivamente), coliformi ed *Enterobacteriaceae* in un campione di mozzarella per pizzeria (10 ufc/g per entrambi) e solo *Enterobacteriaceae* in un campione di burrata e uno di ricotta (10 ufc/g per entrambi). La presenza solo di lieviti è stata riscontrata in un campione di mozzarella (3,0x10<sup>2</sup> ufc/g), 2 di ricotta (3,0x10<sup>2</sup> e 9,0x10<sup>2</sup> ufc/g) e 2 di scamorza (4,0x10<sup>2</sup> e 4,5x10<sup>2</sup> ufc/g), mentre *Pseudomonas* spp. in 2 campioni di ricotta con valori di 1,0x10<sup>2</sup> e 1,1x10<sup>3</sup> ufc/g. Un numero significativo di colonie cresciute su *Pseudomonas* Agar Base è stato saggiato su due terreni (Potato Dextrose Agar e Agar Mascarpone) per la valutazione della produzione di pigmento blu, ma tutti gli isolati hanno dato risultato negativo, confermato anche dall'assenza di pigmentazione o decolorazione all'esame sensoriale. I valori contenuti di cariche microbiche nella maggior parte dei campioni e l'assenza di microrganismi patogeni nella totalità degli stessi depongono a favore di un quadro igienico-sanitario complessivamente favorevole. È stata inoltre evidenziata la conformità ai criteri microbiologici riportati nel Regolamento (CE) N. 2073/2005 e successive modifiche, sia di sicurezza alimentare (*L. monocytogenes*) che di igiene di processo (*E. coli* e stafilococchi coagulasi positivi). La distribuzione (1,6%) di *Pseudomonas* spp. nei campioni esaminati è un fenomeno ben noto nel settore lattiero-caseario, meritevole di attenzione per il possibile impatto di questi microrganismi sull'ac-

cettabilità dei prodotti durante la fase di distribuzione e consumo. Inoltre, essi risultano di difficile eradicazione dall'ambiente di produzione, per le scarse esigenze nutritive e la notevole capacità di adattamento.

## P029

### Il controllo del disegno igienico come attività di medicina preventiva

Roberta Bervini, Amaranta Traversa\*, Guido Bruatto,  
Emanuele Osella, Francesca Rubineti, Claudio Biglia

ASL Città di Torino, Dipartimento della Prevenzione, S.C. Veterinaria B, Torino, Italia

La normativa comunitaria fissa requisiti igienici per strutture, locali e attrezzature destinati alla preparazione di alimenti, finalizzati a garantire una facile pulibilità e a contenere le fonti di contaminazione. Il lavoro è stato orientato alla verifica dei requisiti igienico-strutturali di una articolata attività di somministrazione al pubblico di nuova realizzazione, sottoposta a parziale ristrutturazione di un edificio pre-esistente ubicato in prossimità di una importante area mercatale di Torino. In fase progettuale (maggio 2018), a seguito di pregressi incontri e di richiesta di parere preventivo, sono state fornite specifiche indicazioni sui requisiti di carattere strutturale e valutazioni tecniche per le aree di competenza. Nei mesi di aprile e maggio 2019 sono stati sottoposti ad ispezione gli stands di preparazione e somministrazione di prodotti carnei, ittici e girarrosto. L'attività di controllo è stata condotta mediante sopralluoghi ante e post inaugurazione, raccolta di evidenze fotografiche e conseguenti atti prescrittivi. Le evidenze raccolte documentavano significative non conformità strutturali e inadempienze alle specifiche tecniche stabilite nel parere preventivo. Le non conformità erano ascrivibili a errori di progettazione degli spazi e dei flussi d'aria, scelta impropria dei materiali e di posa degli stessi riconducibili al mancato rispetto dei requisiti di pulibilità e di impenetrabilità. Raccordi parete pavimento sovrapposti e posati in modo discontinuo, mancata o incompleta tamponatura dei coprifili delle porte, nicchie tra attrezzature e pareti, piastrellature prive di fughe formavano spazi di assoluta impulibilità. La mancata sigillatura dei controsoffitti a pannelli e delle canaline e la presenza di aperture a soffitto costituivano potenziali punti di ingresso per animali infestanti e di accumulo di sporcizia. Erano presenti materiali ferrosi ossidati, incompatibili con i luoghi di produzione di alimenti. Nello stand macelleria era presente una vetrina refrigerata (aperta) di esposizione di salumi a taglio con evidente brinatura e condensa dovute allo scambio termico tra una fonte di calore (stand attiguo cucina) e fonte di freddo (vetrina) non interrotto da alcuna barriera strutturale. Le gravi non conformità rilevate presso uno stand hanno comportato l'applicazione dell'art. 8 del D.Lgs. 507/99 "chiusura dell'esercizio per mancanza dei requisiti igienico-sanitari" e il contestuale sequestro giudiziario probatorio ex art. 354 c.p.p. dei prodotti cotti ed esposti in vendita in quanto si ipotizzava il cattivo stato di conservazione (ex art. 5 lettera b) L. 283/62). Nel complesso i vizi strutturali riscontrati non permettevano di garantire nel tempo i criteri essenziali di pulibilità, è stato pertanto prescritto di pervenire a completa e coerente realizzazione del manufatto secondo le specifiche a suo tempo indicate nel parere preventivo. Nel periodo di adeguamento, è stata prescritta una sanificazione quotidiana straordinaria dei locali, delle strutture e delle attrezzature. La realizzazione di un manufatto destinato alla preparazione di derrate alimentari deve necessariamente contemplare nella fase progettuale la verifica preventiva del disegno igienico delle strutture, comprensiva dello stu-

dio dei flussi (prodotti, maestranze, acqua e aria), mediante una collaborazione attiva tra le parti e una condivisione delle specifiche di attuazione dei manufatti e di posa dei materiali.

### P030

#### Valutazione della contaminazione da metalli pesanti in cinghiali cacciati in Liguria

Roberta Nuvoloni\*, Omar Benini, Francesca Pedonese

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa, Italia

Lo sviluppo industriale, lo smaltimento dei rifiuti e l'impiego massiccio di fertilizzanti sono solo alcune delle cause che hanno portato alla dispersione e all'accumulo dei metalli pesanti nell'ambiente e alla loro conseguente propagazione nella catena alimentare. In questo contesto, la selvaggina assume oggi un ruolo fondamentale oltre che come indicatore di qualità ambientale, anche come fonte di contaminazione per l'uomo attraverso il consumo delle carni. Il cinghiale, tra le specie cacciate, è una delle più diffuse e numerose nel nostro Paese. Se la presenza di piombo nei cinghiali abbattuti durante l'esercizio venatorio è stata oggetto di alcune indagini anche in Italia, scarse sono invece le ricerche effettuate nel nostro Paese per verificare la presenza di cadmio. Scopo del lavoro è la valutazione della presenza di piombo e cadmio in cinghiali della Liguria. Sono stati sottoposti alla ricerca dei metalli pesanti 98 reni di cinghiale, provenienti da altrettanti animali, oggetto di attività venatoria nella provincia di Imperia, in Liguria. Per ciascun soggetto sono stati raccolti i seguenti dati: sesso e classe di età (giovane, subadulto, adulto). La ricerca di piombo e cadmio è stata effettuata mediante spettroscopia ad assorbimento atomico in fornello di grafite con correzione di fondo tramite lampada a deuterio. Per ogni campione, l'analisi è stata eseguita in doppio, confrontando i dati ottenuti con un campione di riferimento certificato e una prova in bianco. Il contenuto di piombo e cadmio è stato espresso in mg/Kg di campione. Nei reni esaminati sono stati riscontrati livelli di piombo di 0,01-0,35 mg/Kg, quindi al di sotto del limite di 0,50 mg/Kg fissato dal Reg. (CE) 1881/2006 nelle carni delle specie allevate. Per il cadmio invece, sono stati rinvenuti livelli di 0,01-2,17 mg/Kg. In particolare, su 98 reni esaminati, 50 (51%) presentavano livelli di cadmio superiori al limite di legge di 1,0 mg/Kg, previsto per i reni delle specie allevate. Sia per il piombo che per il cadmio non sono state evidenziate differenze significative tra i maschi e le femmine. Per il cadmio, i campioni che superavano i limiti di legge provenivano nel 65% dei casi da soggetti adulti, nel 46% da subadulti e nel 36% da giovani. I risultati ottenuti evidenziano la presenza del cadmio nei cinghiali presi in esame e il possibile rischio per l'uomo, in quanto tali animali sono oggetto di attività venatoria finalizzata al consumo alimentare. Tuttavia, è opportuno sottolineare che il rene, in quanto organo filtratore, potrebbe presentare livelli più alti di cadmio, rispetto ad altre parti anatomiche più frequentemente utilizzate, come il muscolo. Comunque, nonostante si tratti di dati preliminari, da confermare con ulteriori analisi, la presente indagine può contribuire a delineare la situazione relativa alla contaminazione da metalli pesanti nella selvaggina del nostro Paese.

### P031

#### Studio sui potenziali pericoli microbiologici, biotossicologici e chimici legati al consumo di alghe

Silva Rubini<sup>1</sup>, Simonetta Menotta<sup>1</sup>, Enea Ferlizza<sup>1</sup>, Giorgio Fedrizzi<sup>1</sup>, Gloria Isani<sup>2</sup>, Domenico Gigliotti<sup>1</sup>, Marina Nadia Losio<sup>1</sup>, Filippo Spinardi<sup>3</sup>, Sonia Molesini<sup>4,5</sup>, Sabrina Sciabica<sup>5</sup>, Stefano Manfredini<sup>5</sup>, Andrea Serraino<sup>2</sup>, Federica Giacometti<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna; <sup>3</sup>SELECTA S.P.A., Rovigo; <sup>4</sup>Ambrosialab Srl, Ferrara; <sup>5</sup>Dipartimento di Scienze della vita e biotecnologie, Università di Ferrara, Italia

Le alghe o verdure di mare sono prodotti importati, in continuo aumento, in Europa. Pur essendo prodotti vegetali ricchi di proteine, carboidrati, vitamine ed oligoelementi con indubbi effetti benefici per la salute umana, l'ambiente di raccolta e gli scarsi trattamenti sanitizzanti a cui sono sottoposti prima del consumo, possono costituire una potenziale fonte di intossicazione e/o tossinfezione alimentare. Il presente studio ha lo scopo di raccogliere informazioni sui potenziali pericoli di natura microbiologica, biotossicologica e chimica di questi prodotti per la salute umana. Un totale di 72 prodotti alimentari (alghe fresche salate, essiccate, arrostite, prodotti a base di alghe) sono stati sottoposti a: i) esame ispettivo per verificare alterazioni visibili e l'eventuale presenza di corpi estranei o macro-contaminanti; ii) ricerca di *Norovirus* secondo la norma ISO/TS 15216-2:2013 con il metodo della RT-PCR; iii) ricerca di vibrioni potenzialmente patogeni secondo la norma ISO/TS 21872 1:2017; iv) analisi biotossicologiche per la ricerca di biotossine algali (ASP, PSP e lipofile); v) ricerca di metalli pesanti, arsenico e iodio con una metodica in spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP/MS). Tutti i campioni sono risultati negativi per la ricerca di vibrioni patogeni (*V. cholerae*, *V. vulnificus*, e *V. parahaemolyticus*), di *Norovirus* e di biotossine algali. Dai soli prodotti freschi, sono stati isolati ceppi di *Elizabethkingia meningoseptica*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, *Sphingomonas paucimobilis* e *Pseudomonas fluorescens*. Le alghe appartenenti alla classe delle *Phaeophyceae* presentano il più alto tenore di iodio, seguono le alghe appartenenti alla classe *Rhodophyceae* ed infine le alghe *Chlorophyceae* che presentano un livello di iodio molto basso. Le alghe appartenenti all'ordine Laminariales hanno il più alto tenore di iodio. Nessun prodotto ha presentato concentrazioni significative di piombo, mentre per il cadmio si può rilevare che i prodotti essiccati o arrostiti di alghe Nori hanno presentato concentrazioni maggiori rispetto a tutti gli altri, ed infine, per quanto riguarda il cromo, un solo campione (prodotto "Mix di 7 alghe" essiccate) ha presentato livelli significativi di cromo. Dall'esame ispettivo, sono stati rinvenuti alcuni "macro" contaminanti, costituiti da piccoli crostacei, gusci di molluschi e avannotti, che possono rappresentare una potenziale fonte di allergeni. Le analisi effettuate confermano la salubrità della materia prima, le buone procedure di produzione e la buona tecnologia di conservazione dell'alimento, anche se il rinvenimento occasionale dei sopracitati microrganismi evidenzia la necessità di implementare il sistema di autocontrollo al fine di ridurre la contaminazione da parte di questi potenziali patogeni. Le concentrazioni dei metalli pesanti considerati nei prodotti esaminati non sono tali da poter costituire un reale pericolo per la salute umana. La presenza di tracce di piccoli pesci, crostacei e molluschi nei prodotti freschi, seppur dimostrando la freschezza dei prodotti, può rappresentare un pericolo nei confronti dei soggetti allergici.

Non-commercial use only



## Indice degli autori

Acciari, Vicdalia	34	Cardinale, Davide	31
Addante, Luciana	15	Carraro, Lisa	33
Alborali, Giovanni Loris	11	Carta, Valentina	10
Alio, Vincenzina	6	Caruso, Giorgia	23
Alò, Antonio	10	Caruso, Marta	17
Ambrosio, Rosa Luisa	4,13	Castagnini, Sara	8
Anastasio, Aniello	13	Castellano, Silvia	31
Angellotti, Antonio	26	Castrica, Marta	14,20
Antoci, Salvatore	34,35	Cavalca, Mauro	15
Aprea, Giuseppe	7,30	Cavallo, Carmelo	31
Arcuri, Luigi	16	Ceci, Edmondo	10,20
Arioli, Francesco	20	Celano, Gaetano Vitale	10,14
Armani, Andrea	6	Cenci Goga, Beniamino	29
Arnaboldi, Sara	28	Centonze, Diego	24
Arras, Igor	5	Centorotola, Gabriella	34,35
Baldo, Valentina	11	Ceredi, Francesco	8
Balzan, Stefania	33	Ceruso, Marina	4,13
Balzaretti, Claudia	20	Chessa, Giannina	2
Barbaccia, Pietro	16	Chiaravalle, Antonio Eugenio	23,24
Barbaro, Antonio	21	Chiavacci, Laura	21
Barchiesi, Francesca	24	Chiesa, Francesco	19,26,27
Bardasi, Lia	8	Chiesa, Luca	20
Bardino, Nadia	5	Cianti, Luca	1
Barrasso, Roberta	10,12,20,21	Cicaleni, Gabriela	26
Bassi, Daniela	28	Ciccarese, Giuseppina	21
Bassi, Patrizia	8	Civera, Tiziana	3,19,26,27
Bazzardi, Riccardo	5	Cocconcelli, Pier Sandro	28
Bazzon, Anna Maria	5	Colagiorgi, Angelo	11
Bella, Antonino	2	Cornacchia, Alessandra	34
Benevenia, Roberto	33	Corradi, Margherita	10
Benini, Omar	37	Corrado, Federica	13
Bernardi, Cristian	8	Corti, Ivan	24
Bertasi, Barbara	27,28,33	Cossu, Maurizio	2
Berti, Miriam	7	Costa, Annalisa	21
Bertolotti, Irene	27	Costa, Antonella	6
Bervini, Roberta	36	Costa, Erica	6
Bianchi, Daniela Manila	21,28	Costantini, Luigi	2
Bianco, Angelica	15,17	Cozza, Debora	31
Biglia, Claudio	36	Cristiano, Daniela	12,31
Bignami, Giorgia	23	Curatolo, Michele	25
Bisogno, Francesco Federico	27	D'Agui, Elisa	3
Bonardi, Silvia	10,15	D'Alterio, Nicola	7,30
Bonerba, Elisabetta	10,20	D'Angelantonio, Daniela	7,30,35
Boni, Arianna	7,30	Dalipi, Rogerta	23
Bonilauri, Paolo	8,25	Dall'Ara, Sonia	6
Bono, Gabriele	21	Dallavalle, Sabrina	22
Bozzo, Giancarlo	10,12,14	Dambrosio, Angela	14
Branciarri, Raffaella	19	Daminelli, Paolo	7,35
Brogelli, Nicola	1	Danzetta, Maria Luisa	17
Bruatto, Guido	36	De Benedictis, Maurizio	32
Cacace, Francesco	12	De Cesare, Alessandra	3,9
Calò, Stefania	35	De Medici, Dario	13
Campagnani, Massimo	27	De Santis, Enrico Pietro Luigi	16,17,18
Campanella, Chiara	27	Decastelli, Lucia	21,27,28
Cangini, Monica	6	Defilippo, Francesco	25
Capozzi, Loredana	15,17	Del Sambro, Laura	15,17
Capuano, Federico	13,31	Del Torre, Manuela	30
Carbone, Giovanna	5	Delibato, Elisabetta	13
Cardazzo, Barbara	33	Demontis, Mariella	17
		Di Ciccio, Pierluigi	19,26,27
		Di Clerico, Daniele	2

Di Giacomo, Loredana	26	Lanni, Luigi	21
Di Maio, Antonio	31	Latini, Mario	24
Di Marco Lo Presti, Vincenzo	5	Livini, Francesco	26
Di Marzio, Violeta	34	Lorenzoni, Giuseppa	5
Di Pietro, Vanessa	8	Lorito, Luna	23
Di Pinto, Angela	21	Lorusso, Andrea	15
Di Serafino, Gabriella	32	Loschi, Anna Rita	24,26
Disanto, Chiara	14	Losio, Marina Nadia	10,27,37
Dottori, Michele	25	Losio, Nadia	11
Epifanio, Ersilia Maria	24	Lucchi, Alex	3,9
Fasolato, Luca	33	Luppi, Andrea	15
Fedrizzi, Giorgio	37	Magnani, Rossella	15
Ferlizza, Enea	37	Manca, Gavina	18
Ferrero, Irene	28	Mancini, Maria	21
Ferretti, Ezio	26	Mancusi, Andrea	31
Ferri, Nicola	7	Mancuso, Isabella	16
Festino, Anna Rita	2	Manfreda, Gerardo	3,9
Fiasconaro, Michele	5	Manfredini, Stefano	37
Ficco, Gigliola	12	Mangeri, Lucia	28,33
Fichera, Sandro	26	Mangiacotti, Michele	23,24
Fidelio, Marta	3	Marchetti, Patrizia	10,21
Filipello, Virginia	10,11,27	Marfoglia, Cristina	34,35
Finazzi, Guido	27	Marilungo, Luigi	26
Fiori, Gianuario	2	Marrone, Raffaele	13
Fontana, Federico	33	Martuscelli, Maria	32
Fontana, Maria Cristina	8	Mascolo, Celestina	4
Galante, Domenico	34	Mattio, Luce	22
Gallegiante, Annamaria	21	Meletti, Francesca	33
Galletti, Giorgio	35	Meloni, Maria Pina	16
Gallina, Silvia	28	Menotta, Simonetta	37
Gallitelli, Maria Ester	15	Mentana, Annalisa	24
Galuppini, Elisa	28,33	Merialdi, Giuseppe	8
Gentili, Valentina	26	Miccolupo, Angela	17
Ghidini, Sergio	11,29	Micheli, Massimo Renato	8
Giacometti, Federica	8,37	Miedico, Oto	23
Giarratana, Filippo	1	Migliorati, Giacomo	7,30,35
Gigante, Paolo	25	Mocci, Anna Maria	17,18
Gigliotti, Domenico	37	Moglie, Matteo	32
Gili, Stefano	3	Molesini, Sonia	37
Gilioli, Stefano	10	Mollica, Domenico	12
Giovannetti, Luciana	7	Mondo, Elisabetta	8
Girardi, Santa	31	Mossi, Maria Natalia	19
Giuffrida, Alessandro	1	Mottola, Anna	10,21
Giusti, Alice	6	Mudadu, Alessandro Graziano	5
Goffredo, Elisa	21	Murittu, Gavino	18
Grassi, Ausilia	26,27	Murru, Nicoletta	13
Graziella, Ziino,	29	Nalbone, Luca	1
Griglio, Bartolomeo	3	Neri, Diana	35
Grisendi, Annalisa	25	Nicastro, Luisa	6
Guidi, Alessandra	1	Nicolandi, Luca	19
Hadjicharalambous, Chrystalleni	29	Nobile, Maria	20
Iachini, Serena	7	Novelli, Enrico	33
Iammarino, Marco	23,24	Nucera, Daniele	6,19
Ianieri, Adriana	11,11,29	Nuvoloni, Roberta	37
Iannetti, Simona	17	Olivastri, Alberto Maria Aldo	36
Ippolito, Dorotea	5	Oliveri, Chiara	3
Iriti, Marcello	22	Orlandi, Mino	6
Isani, Gloria	37	Osella, Emanuele	36
Jordan, Kieran	17	Pacciarini, Maria	15
La Macchia, Santi	5	Palermo, Carmen	24
La Tela, Immacolata	31	Palmeri, Marisa	16

Paludi, Domenico	9	Sciabica, Sabrina	37
Panebianco, Antonio	1	Sciortino, Sonia	6
Panseri, Sara	14,20	Scotti, Michele	31
Paparella, Antonello	32,36	Sechi, Paola	29
Parisi, Antonio	15,17	Serraino, Andrea	8,37
Pasquali, Flavio	26	Serratore, Patrizia	6,23
Pasquali, Frederique	3,9	Servadei, Irene	6
Pattono, Daniele	3	Sessa, Federica Maria	1
Pavoni, Enrico	10	Settanni, Luca	16
Pecorelli, Ivan	19	Siddi, Giuliana	16,18
Pedonese, Francesca	37	Simon, Ancuta Cezara	11
Pelliconi, Maria Francesca	8	Sinisi, Carla	21
Pennisi, Luca	2,9	Smaldone, Giorgio	4,13
Pepe, Tiziana	4	Sordino, Paolo	4
Peres, Giacomo	31	Soro, Barbara	5
Peruzy, Maria Francesca	13	Spanu, Carlo	16,17
Pierantoni, Marco	15	Spanu, Vincenzo	16,17
Pino, Fiorella	6	Spinardi, Filippo	37
Pinto, Andrea	22	Stecchini, Mara Lucia	30
Piras, Francesca	16,17	Stella, Simone	8
Piras, Pierluigi	2	Stinga, Laura	12
Piumatti, Nicola	26	Stocchi, Roberta	26
Piva, Silvia	8	Stroppa, Angelo	28
Polese, Pierluigi	30	Taddei, Roberta	8
Pomilio, Francesco	7,8,30,34,35	Tamba, Marco	15
Pongolini, Stefano	7	Tangorre, Saverio	14
Proroga, Yolande Thérèse Rose	12,13,31	Tantillo, Giuseppina	12,20,21
Prosperi, Alice	15	Terio, Valentina	20,21
Pruiti, Flavia	5	Tilola, Michela	28,33
Pupillo, Giovanni	25	Tinacci, Lara	1
Quaglia, Nicoletta	14	Tirloni, Erica	8
Ramini, Mattia	8	Todeschi, Silvia	7,35
Ranucci, David	19	Tomaiuolo, Michele	23
Razzini, Katia	14	Traina, Alice	6
Rea, Stefano	24	Tramuta, Clara	28
Riganatou, Angeliki	26	Traversa, Amaranta	36
Roila, Rossana	19	Treglia, Ida	25
Romano, Angelo	27	Tritto, Antonio	14
Rosamilia, Alfonso	8	Trotta, Marco	31
Rossi, Alfredo	8	Tucci, Patrizia	35
Rossi, Giovanni	8	Valiani, Andrea	19
Rovelli, Giacomo	22	Vallone, Lisa	22
Ru, Antonio	18	Varisco, Giorgio	7
Rubinetti, Francesca	36	Varrà, Maria Olga	29
Rubini, Silva	37	Vasconi, Mauro	8
Rubiola, Selene	26	Venuti, Iolanda	4
Ruggeri, Simonetta	26	Vergara, Alberto	2,9
Saletti, Maria Antonietta	34	Verrocchi, Enrica	9
Sangiorgi, Emanuele	23	Viridis, Salvatore	16
Sanna, Andrea	2	Virgilio, Sebastiano	5
Sanna, Giovanna	5	Visciano, Pierina	32,36
Santagada, Gianfranco	17	Vitale, Maria	5
Santino, Barreca	16	Vitale, Nicoletta	21,35
Santonicola, Serena	13	Vodret, Bruna	5
Savarino, Alessandra Emilia	12,20,21	Vollano, Lucia	13
Scali, Federico	11	Zanardi, Emanuela	11,29
Scarano, Christian	16,17	Zanghì, Mary	5
Scatassa, Maria Luisa	16	Zanoni, Mariagrazia	15
Scattolini, Silvia	7,30	Zavatta, Emanuele	23
Schinzari, Marco	9	Zelioli, Anna	28
Schirone, Maria	32,36	Ziino, Graziella	1

Non-commercial use only





**EDITORIAL STAFF**

Emanuela Fusinato, Journal Manager  
[emanuela.fusinato@pagepress.org](mailto:emanuela.fusinato@pagepress.org)

Claudia Castellano, Production Editor  
Cristiana Poggi, Production Editor

Tiziano Taccini, Technical Support

**PUBLISHED BY**

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



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

**TIPOGRAFIA**

Press Up s.r.l.  
via E.Q. Visconti 90  
00193 Roma, Italy

Stampato: settembre 2019.

