



A.I.V.I.
Associazione Italiana
Veterinari Igienisti

XXX CONVEGNO NAZIONALE

ASSOCIAZIONE ITALIANA VETERINARI IGIENISTI

SFIDE GLOBALI NELLA GESTIONE DELLE CRITICITÀ DELLE FILIERE ALIMENTARI

16-17 e 23-24 Settembre 2021

WEBINAR LIVE



www.aivi.it

BOOK OF ABSTRACTS



Segreteria Organizzativa
I Viaggi di Salomone
www.ivaggidisalomone.it

CON IL PATROCINIO DI:



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI NAPOLI FEDERICO II



Istituto Zooprofilattico
Sperimentale del Mezzogiorno



Dipartimento
Medicina Veterinaria
Produzioni Animali



Scuola di Agraria
e Medicina Veterinaria
dell'Università degli Studi di Napoli Federico II



ORDINE
DEI MEDICI
VETERINARI
DELLA PROVINCIA
DI NAPOLI



Ordine
Medici Veterinari
salerno



ORDINE DEI MEDICI VETERINARI
DELLA PROVINCIA DI AVELLINO



ORDINE DEI
MEDICI
VETERINARI
DELLA PROVINCIA DI
CASERTA

SPONSOR:

EUROFISH
NAPOLI



Delfino
freschezza sotto zero.



I Viaggi di Salomone

Tel. 0805857174

e-mail: eventi@iviaggidisalomone.it

www.iviaggidisalomone.it

PRESIDENTE

Aniello Anastasio

SEGRETARIO

Raffaele Marrone

COMITATO SCIENTIFICO

Enrico De Santis
Maria Luisa Cortesi
Antonio Panebianco
Tiziana Civera
Gaetano Celano
Beniamino Cenci Goga
Alessandro Giuffrida
Alessandra Guidi
Adriana Ianieri
Anna Rita Loschi
Enrico Novelli
Andrea Serraino
Giuseppina Marilia Tantillo
Gaetano Liuzzo
Roberto Macrì
Domenico Mollica
Teresa Bossù
Sebastiano Virgilio
Giuseppe Palma

COMITATO ORGANIZZATORE XXX CONVEGNO NAZIONALE

Aniello Anastasio
Cristian Bernardi
Elisabetta Bonerba
Teresa Bossù
Pierluigi Aldo Di Ciccio
Sergio Ghidini
Filippo Giarratana
Roberto Macrì
Raffaele Marrone
Giuseppe Palma
Christian Scarano
Lara Tinacci

Comunicazioni Scientifiche

■ GIOVEDÌ 16 SETTEMBRE 2021

SESSIONE CARNE

Prima Parte

VALUTAZIONE DELLA PRESENZA DI BATTERI ENTEROPATOGENI NELLE CARNI DI CINGHIALI CACCIATI IN REGIONE CAMPANIA	1
M.F. Peruzi, D. Cristiano, N. D'Alessio, Y.T.R. Proroga, R.L. Capozza, A. Rippa, N. Murru	
VALUTAZIONE DI CARNI BOVINE MATURATE IN ACQUA DI MARE DEPURATA: ASPETTI MICROBIOLOGICI E CHIMICO-FISICI	1
E. Tirloni, S. Stella, C. Bernardi, D. Timaco	
UTILIZZO DI COLTURE PROTETTIVE COMMERCIALI PER LA GESTIONE DEL PERICOLO <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> NELLA SALSICCIA SARDA STAGIONATA	2
F. Piras, V. Spanu, M.P. Meloni, G. Siddi, R. Sanna, N. Carta, M. Errico, M. Cuccu, L. Chessa, A. Paba, E.P.L. De Santis, C. Scarano	
EVOLUZIONE DELLA RESISTENZA AI BETA-LATTAMICI, FLUOROCHINOLONI, COLISTINA E PROFILI GENETICI IN <i>SALMONELLA</i> ISOLATA DA CARNE SUINA IN EMILIA-ROMAGNA	2
I. Carmosino, S. Bonardi, M. Rega, A. Luppi, L. Lamperti, M.C. Ossiprandi, C. Bacci	
EFFETTO DI TEMPO E TEMPERATURA NELLE FASI PRE-RAFFREDDAMENTO SUL LIVELLO IGIENICO DI CARCASSE DI CINGHIALE CACCIATO IN CENTRO ITALIA	3
D. Ranucci, R. Barbani, G. Lalinga, L. Bardasi, G. Meriardi, R. Branciari, D. Miraglia, R. Roila	
LA MACELLAZIONE DOMESTICA: TRA TRADIZIONE E SICUREZZA DEL CONSUMATORE	3
D. Mollica, D. Cristiano, F. Cacace, S. Castellano, A. Mancusi, E. Delibato, F.S. Castellano, M. Lorello, V. Rapesta, Y.T.R. Proroga	

Seconda Parte

PRESENZA DEL VIRUS DELL'EPATITE E NEL FEGATO DI CINGHIALI (<i>SUS SCROFA</i>) ABBATTUTI A CACCIA NEL CENTRO ITALIA	4
G. Ferri, A. Piccinini, A. Olivastri, A. Vergara	
ASCESSI INTRADIAFRAMMATICI IN UN CINGHIALE SELVATICO (<i>SUS SCROFA</i>): IMPLICAZIONI ISPETTIVE SULLA BASE DI RILIEVI ANATOMOPATOLOGICI	4
A. Piccinini, G. Ferri, A. Olivastri, F. Rossi, A.R. Festino, A. Vergara	
PREVALENZA E PROFILI DI ANTIMICROBICO RESISTENZA IN <i>SALMONELLA</i> SPP. NELLA FILIERA DELLE CARNI SUINE	5
C. Lauteri, A.R. Festino, M. Conter, A. Vergara	
ANTIMICROBICO RESISTENZA DI BATTERI ISOLATI IN UN MACELLO SUINO	5
P. Rodríguez-López, S. Ghidini, S. De Luca, A.C. Simon, G. Liuzzo, L. Poli, A. Ianieri, E. Zanardi	
<i>PSEUDOMONAS</i> SPP. E ALTERAZIONE CROMATICA IN CARCASSE DI CONIGLIO: POSSIBILI IMPLICAZIONI SANITARIE	5
G. Casalino, E. Circella, A. Camarda, A. Schiavone, E. Ceci, D. Romito, G. Bozzo	
RACCOLTA E ANALISI DEI RILIEVI ISPETTIVI EPATICI OTTENUTI PRESSO DIVERSI MACELLI BOVINI IN LOMBARDIA E IN PUGLIA	6
S. Stella, E. Tirloni, C. Bernardi, G. Acerbis, T. Manginelli	
EFFETTO DEL PACKAGING E DELLE CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE SU ALCUNE CARATTERISTICHE QUALITATIVE DELLE CARNI BOVINE	6
L. Grispoldi, A. Chalias, E. Barzi, L. Pecorari, B.T. Cenci-Goga	

■ VENERDÌ 17 SETTEMBRE 2021

SESSIONE LATTE E TEMI VARI

Prima Parte

STUDIO SULL'EFFICACIA DELL'OZONO GASSOSO PER IL CONTROLLO DI BIOFILM DI ISOLATI DI PSEUDOMONAS SPP. DA INDUSTRIA LATTIERO-CASEARIA	7
F. Panebianco, S. Rubiola, F. Chiesa, T. Civera, P. Di Ciccio	
MESSA A PUNTO DI UN METODO DI CROMATOGRAFIA LIQUIDA AD ALTA PRESTAZIONE PER LA DETERMINAZIONE DI LIVELLI DI BISFENOLO F NEL LATTE	8
S. Santonicola, M.C. Ferrante, G. Colavita, R. Mercogliano	
UTILIZZO DI COLTURE PROTETTIVE COME INNOVAZIONE TECNOLOGICA PER MIGLIORARE LA SICUREZZA ALIMENTARE IN FORMAGGI OVINI PORZIONATI PRODOTTI IN SARDEGNA	8
C. Scarano, F. Piras, M. Demontis, V. Spanu, M.P. Meloni, G. Siddi, R. Sanna, M. Cuccu, G. Nieddu, E.PL. De Santis	
GONFIORE TARDIVO IN FORMAGGIO "GROTTONE": RILEVAMENTO DI CLOSTRIDI E STRATEGIE DI CONTENIMENTO . . .	9
M.F. Peruzzy, G. Blaiotta, M. Aponte, M. de Sena, N. Murru	
VALUTAZIONE DEL PROFILO DI RISCHIO MICROBIOLOGICO DI FORMAGGIO ARTIGIANALE A PASTA MOLLE SQUACQUERONE D.O.P. E DELL'IMPIANTO DI PRODUZIONE IN DIFFERENTI PERIODI STAGIONALI	9
C. Crippa, F. Pasquali, A. Lucchi, L. Gambi, A. De Cesare	
DETERMINAZIONE DI (POLI)FOSFATI NON DICHIARATI NEI PRODOTTI LATTIERO-CASEARI AI FINI DELLA SICUREZZA ALIMENTARE E CONTRASTO ALLE FRODI	10
R. Pavlovic, M. Nobile, F. Di Cesare, S. Panseri, F. Longo, E. Bonerba, R. Villa, B. Neri, L.M. Chiesa	

Seconda Parte

EFFICACIA DELL'ACQUA ELETTROLIZZATA ALCALINA NELLA RIDUZIONE DELLA CARICA BATTERICA SU SUPERFICI DESTINATE A VENIRE A CONTATTO CON ALIMENTI	10
F. Giacometti, F. Tomasello, M. Pollesel, E. Mondo, F. Savini, R. Scarpellini, S. Piva, A. Serraino	
ARGIRIUM® NANO CLUSTERS DI ARGENTO PER APPLICAZIONI ALIMENTARI	11
L. Scotti, Y.T.R. Proroga, D. Cristiano, F. Capuano, D. Paludi, A. Aceto	
ATMOSPHERIC PRESSURE NON-THERMAL PLASMA: INDAGINE PRELIMINARE	11
L. Vallone, A. Galassi, L. Ferrucci, M. Costanzi	
GESTIONE INFORMATIZZATA DELLA SICUREZZA ALIMENTARE: VALUTAZIONE ED APPLICABILITÀ IN UNA MICROIMPRESA	11
M. Sartoni, C. Polese, L. Cianti, A. Guidi	
ATTIVITÀ ANTIMICROBICA E ANTIBIOFILM DI OLIO ESSENZIALE DI MANUKA NEI CONFRONTI DI LISTERIA MONOCYTOGENES E STAPHYLOCOCCUS AUREUS DI ORIGINE ALIMENTARE	12
F. Pedonese, E. Longo, B. Torracca, B. Najar, F. Fratini, R. Nuvoloni	
PROBLEMATICHE IGIENICO-SANITARIE E COMMERCIALI IN FUNGHI FRESCHI, SPONTANEI E COLTIVATI, E IN PRODOTTI A BASE DI FUNGHI	12
A. Giusti, L. Tinacci, F. Verdigi, R. Narducci, L. Gasperetti, A. Armani	

■ GIOVEDÌ 23 SETTEMBRE 2021

SESSIONE PESCE E TEMI VARI

Prima Parte

LEGISLAZIONE DELL'UNIONE EUROPEA E MOLLUSCHI BIVALVI VIVI: IL CRITERIO DI SICUREZZA PER <i>ESCHERICHIA COLI</i> È COERENTE E COORDINATO CON I CRITERI DI CLASSIFICAZIONE DELLE AREE DI PRODUZIONE?	13
C. Ciccarelli, M. Leinoudi, A.M. Semeraro, V. Di Trani, E. Ciccarelli, G. Consorti	
DETERMINAZIONE DELLA PRESENZA DI METALLI PESANTI IN MITILI PROVENIENTI DA UN ALLEVAMENTO PILOTA DELLA LAGUNA DI CALICH (SARDEGNA)	14
D. Meloni, A.G. Mudadu, M.C. Abete, A.M. Bazzoni, A. Griglione, S. Pederiva, S. Serra, N. Fois, G. Esposito, S. Squadrone	
EFFETTO DEI DIVERSI TRATTAMENTI DI COTTURA SUL LIVELLO RESIDUO DI SOLFITI NEI CROSTACEI	14
M. Iammarino, G. Berardi, A. Di Taranto, V. Vita, C. Marseglia	
RICERCA DI PARAMETRI MICROBIOLOGICI, BIOTOSSINE ALGALI E MICROPLASTICHE IN MITILI E DI FITOPLANCTON IN CAMPIONI DI ACQUA PROVENIENTI DA UN ALLEVAMENTO PILOTA DELLA LAGUNA DI CALICH (SARDEGNA)	15
A.G. Mudadu, A.M. Bazzoni, R. Melillo, G. Lorenzoni, S. Cau, B. Soro, S. Salza, G. Piras, B. Vodret, T. Tedde, S. Serra, N. Fois, S. Virgilio, D. Meloni	
CONTAMINAZIONE DA MICROPLASTICHE FIBROSE IN MITILI (<i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i>) E ALICI (<i>ENGRAULIS ENCRASICOLOUS</i>) PROVENIENTI DAL MAR TIRRENO	15
S. Santonicola, M. Volgare, E. Di Pace, M. Cocca, R. Mercogliano, G. Colavita	
FLUTTUAZIONI DELLA TEMPERATURA LUNGO LA FILIERA DISTRIBUTIVA ALIMENTARE E COMPORTAMENTO DI <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>: VALUTAZIONI <i>IN VITRO</i> E SIMULAZIONI MEDIANTE APPROCCIO DINAMICO E STOCASTICO	16
A. Giuffrida, F. Giarratana, L. Nalbone, G. Ziino, G. Donato, S.M. Marotta, F. Lamberta	
AUDIT IN GRANDE DISTRIBUZIONE ORGANIZZATA AI TEMPI DEL COVID-19: ESPERIENZE DI CONTROLLO DI SISTEMA CON UN APPROCCIO INNOVATIVO	16
A. Traversa, S. Lanzilli, F. Rubineti, R. Bervini, G. Bruatto, E. Coruzzi, M. Gilli, A. Mendolicchio, E. Osella, E. Stassi, C. Biglia	

Seconda Parte

RICERCA DI MICROPLASTICA IN ESEMPLARI DI <i>SEPIA OFFICINALIS</i> CATTURATE NELLE COSTE DEL MAR ADRIATICO CENTRALE	17
L. Pennisi, A. Armellini, A. De Camillis	
DNA METABARCODING PER L'IDENTIFICAZIONE DI SPECIE IN <i>FISH BURGER</i>	17
A. Mottola, R. Piredda, G. Catanese, F. Giorelli, G. Cagnazzo, G. Ciccarese, A. Dambrosio, N.C. Quaglia, A. Di Pinto	
INDAGINE SULLA PRESENZA DI MICROPLASTICHE IN PESCE GHIACCIO (<i>NEOSALANX SPP.</i>) REGOLARMENTE COMMERCIALIZZATO	18
L. Nalbone, G. Ziino, F. Giarratana, B. Romana, F. Cincotta, A. Panebianco	
VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI IMBALLAGGI FUNZIONALIZZATI CON PEPTIDE ANTIMICROBICO SULLA <i>SHELF LIFE</i> DI HAMBURGER DI LAMPUGA (<i>CORYPHAENA HIPPURUS</i>)	18
R.L. Ambrosio, G. Palmieri, R. Marrone, M. Balestrieri, M. Gogliettino, A. Anastasio	
VALUTAZIONE DELL'ATTIVITA' ANTIMICROBICA DI COMPOSTI PURI OTTENUTI DA <i>PSEUDOALTEROMONAS HALOPLANKTIS</i> VERSO IL MICRORGANISMO PATOGENO <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>	19
I. Venuti, M. Ceruso, C. D'angelo, A. Casillo, T. Pepe	
VALUTAZIONE DELL'INFETTIVITÀ DI HAV IN VEGETALI <i>READY-TO-EAT</i>	19
P. Lorusso, A. Pandiscia, E. Bonerba, G. Tantillo, V. Terio	

Sessione Poster

■ VENERDÌ 24 SETTEMBRE 2021

RICERCA DELL'ALLERGENE SEDANO (<i>APIUM GRAVEOLENS</i>) NEGLI ALIMENTI MEDIANTE DIGITAL PCR	21
S. Cau, M.G. Tilocca, C. Spanu, B. Soro, T. Tedde, S. Salza, R. Melillo, G. Piras, S. Virgilio, B. Vodret, A.G. Mudadu	
GESTIONE EMERGENZA SANITARIA COVID-19: L'ESPERIENZA DEL SERVIZIO DI IGIENE DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE DELL'ASUR MARCHE AREA VASTA 4 DI FERMO	21
L. Di Giacomo, A. Angellotti, M. Castagna, S. Fichera, V. Gentili, F. Livini, L. Marilungo, F. Pasquali, A. Riganatou, S. Ruggeri, E. Ferretti	
CONTROLLI CHIMICI SULLE VERDURE A FOGLIA LARGA: ESISTE UN RISCHIO NITRITI?	22
M. Iammarino, G. Berardi, V. Vita, C. Marseglia, A. Di Taranto	
IL MONITORAGGIO DELLE AREE DI PRODUZIONE DEI MOLLUSCHI BIVALVI NELLA REGIONE MARCHE: UNA VALUTAZIONE CRITICA DEI RISULTATI OTTENUTI NEL PERIODO 2016-2020	22
C. Ciccarelli, G. D'Aurizio	
BOX BEHNKEN DESIGN PER L'OTTIMIZZAZIONE DI UN METODO ANALITICO PER LA DETERMINAZIONE DI NDL-PCBs IN CAMPIONI DI LATTE MEDIANTE GC/ECD E GC/MS/MS	23
V. D'Amico, V. Nardelli, I. Della Rovere, F. Casamassima, W.M.V. Marchesiello, D. Nardiello, M. Quinto	
MONITORAGGIO DI PESTICIDI IN CEREALI E LEGUMI MEDIANTE GC-MS/MS E VALUTAZIONE DEL GRADO DI CONTAMINAZIONE	24
M. Ingegno, V. Nardelli, V. D'Amico, I. Della Rovere, F. Casamassima, A. Calitri, M. Iammarino, D. Nardiello, M. Quinto	
IDENTIFICAZIONE DEL TRATTAMENTO RADIANTE IN CANNOLICCHI (<i>SOLEN MARGINATUS</i>): CARATTERIZZAZIONE DELLO SPETTRO DI RISONANZA DI SPIN ELETTRONICO	24
A. Chiappinelli, M. Tomaiuolo, M. Campaniello, M. Iammarino, M. Nicolini, V. Nardelli	
ANALISI QUANTITATIVA DELLO SPETTRO DI RISONANZA DI SPIN ELETTRONICO DI CANNOLICCHI (<i>SOLEN MARGINATUS</i>) IRRAGGIATI CON RAGGI X A BASSA ENERGIA	25
M. Tomaiuolo, A. Chiappinelli, M. Campaniello, M. Iammarino, M. Nicolini, R. Accettulli, V. Nardelli	
METODO EN 1785:2003 PER L'IDENTIFICAZIONE DEL TRATTAMENTO IONIZZANTE DI PRODOTTI PROCESSATI A BASE DI CARNE DI POLLAME: OTTIMIZZAZIONE DELLA PROCEDURA ACCELERATED SOLVENT EXTRACTION	25
M. Campaniello, R. Zianni, A. Chiappinelli, A. Mentana, V. Nardelli	
SAGGIO DNA COMET APPLICATO ALL'ANALISI DI PRODOTTI A BASE DI CARNE DI POLLAME: STUDIO DEGLI EFFETTI COMBINATI TEMPERATURA/CONSERVAZIONE E TRATTAMENTO CON RADIAZIONI IONIZZANTI	26
R. Zianni, M. Campaniello, R. Accettulli, M. Iammarino, V. Nardelli	
SICUREZZA IGIENICO-SANITARIA E QUALITÀ DURANTE IL TRASPORTO DEGLI ALIMENTI READY TO EAT: LA LOGISTICA DELLE CONSEGNE DELL'ULTIMO MIGLIO	26
M. Castrica, C.M. Balzaretti, E. Copelotti, G.V. Celano, G. Costantino, V. Terio	
DESTINO DI <i>LISTERIA INNOCUA</i> DURANTE IL PROCESSO DI PRODUZIONE DI PROVOLONE STAGIONATO 60 GIORNI	27
E. Cosciani-Cunico, E. Dalzini, P. Monastero, D. Merigo, P. Daminelli, M.N. Losio	
ANTIMICROBICO RESISTENZA IN BATTERI LATTICI ISOLATI DA MATRICI CASEARIE	27
G. Costantino, M. Calasso, M. Corrente, S. Tangorre, G.V. Celano	
VARIABILITÀ DELLE CINETICHE DI INATTIVAZIONE DI CEPPI DI <i>SALMONELLA</i> SPP: DIFFERENZE CEPPO-DIPENDENTI E DI RECUPERO IN BASE AL MEZZO CULTURALE UTILIZZATO	28
A. Caproli, F. Righi, D. Merigo, E. Dalzini, P. Monastero, E. Cosciani-Cunico, M.N. Losio	
TECNOLOGIA AD OSTACOLI: IMPATTO SUL COMPORTAMENTO DI <i>SALMONELLA</i> SPP IN SALAME-TIPO MILANO CON E SENZA NITRITI	28
E. Dalzini, D. Merigo, P. Monastero, E. Cosciani-Cunico, A. Caproli, P. Daminelli, M.N. Losio	
IL BLU COLPISCE ANCORA: RI-EMERGENZA DI <i>PSEUDOMONAS FLUORESCENS</i> CROMOGENI IN PRODOTTI LATTIERO-CASEARI, IDENTIFICAZIONE RAPIDA E CARATTERIZZAZIONE DEI CEPPI PRESENTI IN CASEIFICIO	29
V. Filipello, S. Arnaboldi, L. Ragni, E. Pavoni, G. Finazzi, G. Andreoli	

SFIDE GLOBALI NELLA GESTIONE DELLE CRITICITÀ DELLE FILIERE ALIMENTARI

Webinar live 16-17 e 23-24 Settembre 2021



COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

Giovedì 16 settembre 2021

Sessione CARNE

C01

VALUTAZIONE DELLA PRESENZA DI BATTERI ENTEROPATOGENI NELLE CARNI DI CINGHIALI CACCIATI IN REGIONE CAMPANIA

M.F. Peruzi¹, D. Cristiano^{2*}, N. D'Alessio², Y.T.R. Proroga², R.L. Capozza², A. Ripa¹, N. Murru^{1,3}

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni animali, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli; ²Istituto Zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, Portici, (NA); ³Task Force per gli Studi sul Microbioma, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli, Italy

Negli ultimi anni l'attività venatoria, correlata ad una sempre maggiore presenza di cinghiali selvatici, ha determinato un aumento dei consumi delle carni di questo animale; tuttavia, in ambito sanitario, tale specie è da sempre considerata particolarmente insidiosa in quanto il consumo di queste carni può determinare zoonosi. La carne di cinghiale possiede una microflora che è strettamente dipendente da: (i) la popolazione microbica naturalmente presente sulla pelle e nel tratto digerente dell'animale (ii) l'igiene durante la caccia (es. metodo di caccia, dissanguamento assente o ritardato nel tempo, rottura dell'intestino a causa dello sparo) e (iii) la diffusione di microrganismi durante il processo di macellazione e in particolare durante l'eviscerazione che, se non adeguatamente condotta, determina la contaminazione della carcassa ad opera di patogeni enterici, come *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* spp. ed *E. coli*. Pertanto, lo scopo del presente studio è stato quello di valutare la presenza di patogeni enterici in campioni di carne di cinghiale abbattuti in regione Campania. Sono stati analizzati 28 campioni di carne di cinghiale cacciati durante la stagione venatoria (ottobre - dicembre) del 2019. I campioni di carne sono stati prelevati da 14 femmine (peso medio di 47.07 Kg) e 14 maschi (peso medio di 53.57 Kg) e trasportati in regime di temperatura controllata presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno di Portici dove sono stati processati entro le 24 ore successive al prelievo. I campioni sono stati pertanto analizzati per la ricerca e/o isolamento di *Salmonella* spp., *Y. enterocolitica*, *Campylobacter* ed *E. coli* patogeni mediante le rispettive metodiche ISO. *Salmonella* spp. è stata rilevata e isolata in dieci campioni e dopo sierotipizzazione *S. Venezia*, *S. Kasenyi*, *S. Coeln*, *S. Manhattan*, *S. Thompson* e *S. Stanleyville* sono state identificate. Ventuno campioni di carne sono risultati essere conta-

minati da *Y. enterocolitica*; in particolare in 6 campioni sono stati rilevati contemporaneamente i geni *ystA* e *ystB*, mentre in 15 solo il gene *ystB* che caratterizza i batteri appartenenti al biotipo 1A. Tuttavia, il patogeno è stato isolato solo da un campione. Il gene *eae*, che codifica per la proteina intimina (una proteina batterica di membrana), che consente la colonizzazione e l'adesione alla parete intestinale, è stato rilevato in 15 campioni mentre gli *E. Coli* produttori di Shiga-Tossine sono stati rilevati in 12. *Campylobacter* spp non è stato mai rilevato. In conclusione, sebbene il numero di campioni esaminati nella presente ricerca sia esiguo, un elevato numero di questi è risultato essere contaminato da batteri enteropatogeni. La presenza di patogeni nel cinghiale può rappresentare un rischio sia per l'uomo che per gli animali domestici. Questo testimonia, l'importanza dei controlli in tutta la filiera del cinghiale e pertanto la cessione anche di piccoli quantitativi di carne non sottoposta a controllo sanitario non è raccomandata. In regione Campania, i controlli sono garantiti dai Medici Veterinari che lavorano nell'ambito del "piano di gestione e controllo del cinghiale in regione Campania" che ha come duplice obiettivo quello di contenere la presenza sempre più invasiva di questo animale e garantire una maggiore sicurezza, tracciabilità e trasparenza nel consumo delle carni.

C02

VALUTAZIONE DI CARNI BOVINE MATURATE IN ACQUA DI MARE DEPURATA: ASPETTI MICROBIOLOGICI E CHIMICO-FISICI

E. Tirloni, S. Stella, C. Bernardi, D. Timaco

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

Il presente studio è stato volto alla valutazione dell'influenza del mantenimento di carni bovine in acqua di mare depurata, analizzando come questa procedura potesse influenzare le caratteristiche microbiologiche e fisico-chimiche della carne. Sono stati presi in considerazione un totale di 16 campioni di costate intere con osso sottoposte a frollatura a secco prolungata. I campioni trattati sono stati forati, a spessore parziale, sulle loro superfici superiore e inferiore, successivamente posti in contenitori plastici sterili e coperti con acqua di mare depurata mentre i campioni controllo sono stati avvolti in un film plastico; tutti i campioni sono stati quindi stoccati alla temperatura di 2°C per 10 giorni. Le analisi dei campioni sono state effettuate il giorno di ricevimento (t0) e dopo cinque (t5), sette (t7) e dieci (t10) giorni di conservazione. I campioni sono stati sottoposti ad analisi microbiologiche (enumerazione Conta batterica totale, batteri alotolleranti, batteri lattici, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., lieviti e muffe) e chimico-fisiche (misurazione dei parametri colorimetrici, determinazione del pH muscolare e misurazione della Water Holding Capacity (WHC) sui campioni crudi; perdita di peso dopo cottura e misurazione

dello sforzo di taglio Warner Bratzler sui campioni cotti. La popolazione batterica iniziale si è dimostrata nella media per un prodotto carneo sottoposto ad una lunga frollatura. Dopo 5 e 10 giorni di conservazione i campioni trattati mostravano cariche (Conta batterica totale, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp.) significativamente più basse rispetto ai campioni controllo. I batteri lattici hanno mostrato cariche significativamente più alte nel periodo nei campioni trattati. Batteri alotolleranti, lieviti e muffe non hanno mostrato differenze tra le due serie. Nel corso della prova, la superficie esposta delle carni ha subito, nei campioni trattati, una parziale denaturazione proteica; le carni hanno quindi assunto un colore più chiaro: l'indice di luminosità è aumentato durante la prima parte della prova nei campioni trattati, mentre è rimasto stabile nei campioni di controllo. Dalle analisi appare evidente una moderata acidificazione delle carni durante la prima parte della conservazione (da t0 a t5), seguita da una sostanziale stabilizzazione nella seconda metà della prova. Il pH delle carni trattate è risultato significativamente più basso rispetto a quello dei campioni di controllo per tutta la durata della prova. Le carni immerse in acqua di mare depurata hanno acquisito una capacità di ritenzione idrica significativamente e costantemente maggiore rispetto ai campioni di controllo; tale risultato è presumibilmente legato all'assorbimento di sale da parte delle carni, che ha conferito loro una maggior forza osmotica. La perdita di peso in cottura dei campioni è da considerarsi globalmente molto limitata; considerando lo sforzo di taglio i valori ottenuti sono da considerarsi molto bassi, indicando un elevato grado di tenerezza delle carni utilizzate (≤ 2.6 kgf/cm²), presumibilmente grazie all'azione degli enzimi proteolitici compiutasi nell'arco della maturazione e della conservazione. In particolare, nella seconda parte si è osservato un intenerimento delle carni trattate, con valori tendenzialmente inferiori, seppur non significativamente, se confrontati con i campioni di controllo.

C03

UTILIZZO DI COLTURE PROTETTIVE COMMERCIALI PER LA GESTIONE DEL PERICOLO *LISTERIA MONOCYTOGENES* NELLA SALSICCIA SARDA STAGIONATA

F. Piras¹, V. Spanu¹, M.P. Meloni¹, G. Siddi¹, R. Sanna¹, N. Carta¹, M. Errico¹, M. Cuccu¹, L. Chessa², A. Paba², E.P.L. De Santis¹, C. Scarano¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Settore di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Sassari; ²Agris Sardegna, Sassari, Italy

Lo scopo del lavoro era quello di valutare l'efficacia dell'utilizzo di due colture protettive, reperibili in commercio, nel contrastare lo sviluppo e la moltiplicazione di *Listeria monocytogenes* (LM) nella salsiccia sarda stagionata (SS), prodotto a base di carne tipico della Regione Sardegna, insaccato crudo a carne trita di suino sottoposto ad una breve stagionatura di circa 21 giorni. È stata inoltre valutata l'introduzione di questa innovazione tecnologica nel processo produttivo di 3 salumifici della Sardegna, rappresentativi dell'intero comparto regionale, costituito da piccole attività con produzioni spiccatamente artigianali e da aziende più grandi, con lavorazioni standardizzate di tipo industriale. Nel salumificio pilota del Dipartimento di Medicina Veterinaria sono stati prodotti 3 lotti sperimentali di SS utilizzando materie prime, ingredienti e budelli per l'insacco forniti dai 3 salumifici. L'inoculo sperimentale di LM, utilizzato alla concentrazione di 10² ufc/gr era costituito da 3 ceppi di campo e 2 ceppi di collezione. Per ogni lotto sono state prodotte 4 tipologie di campioni: un controllo negativo, un controllo positivo e

due campioni inoculati rispettivamente con LM più la coltura protettiva A e con LM più la coltura protettiva B. I campioni sono stati analizzati a 4 differenti tempi: T₀ (campioni subito dopo l'insacco), T₁ (24h dopo l'insacco), T₆ (6gg dopo l'insacco) e T₂₀ (20gg dopo l'insacco). Su tutti i campioni sperimentali è stata effettuata la ricerca e la conta di LM al fine di valutare la coltura protettiva più efficace per il controllo di LM nel prodotto. La coltura risultata più efficace nel contrastare la moltiplicazione di LM è stata fornita ai 3 salumifici per testarne l'utilizzo nel processo produttivo della SS e valutare l'impatto sulle caratteristiche chimico-fisiche e microbiologiche. Nei tre salumifici, sono stati prodotti 3 differenti lotti di 2 tipologie di campioni di SS a fine stagionatura, una addizionata con la coltura protettiva selezionata e un campione controllo. Su tutte le tipologie è stata effettuata la valutazione dei parametri chimico-fisici pH e a_w e la ricerca e conta di *Listeria* spp., LM, batteri lattici, *Micrococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, lieviti e muffe. I risultati sperimentali hanno mostrato che la coltura protettiva A è risultata più efficace nel contrastare lo sviluppo e la moltiplicazione di LM. È stata infatti evidenziata una riduzione del patogeno di circa 1 log già al T₁ e fino al T₂₀ quando LM non era più rilevabile. I campioni di SS con e senza coltura protettiva prodotti nei salumifici hanno mostrato valori di a_w sovrapponibili per tutte le tipologie di campioni. Sono stati invece evidenziati valori di pH leggermente più bassi per i campioni addizionati con la coltura protettiva rispetto ai campioni controllo. L'aggiunta della coltura protettiva non ha influenzato significativamente la concentrazione di batteri lattici, micrococchi e stafilococchi coagulasi negativi; ha invece mostrato un effetto nei confronti di lieviti, muffe ed *Enterobacteriaceae*, con una riduzione di circa 1 log rispetto ai campioni controllo. L'aggiunta di colture protettive liofilizzate nel processo produttivo della SS stagionata assicura un adeguato controllo del pericolo LM nel prodotto e non modifica le caratteristiche chimico-fisiche e di microflora. È inoltre di semplice utilizzo, con costi contenuti per l'azienda e non necessita di modifiche delle fasi del processo di produzione.

C04

EVOLUZIONE DELLA RESISTENZA AI BETA-LATTAMICI, FLUOROCHINOLONI, COLISTINA E PROFILI GENETICI IN *SALMONELLA* ISOLATA DA CARNE SUINA IN EMILIA-ROMAGNA

I. Carosino¹, S. Bonardi¹, M. Rega¹, A. Luppi², L. Lamperti¹, M.C. Ossiprandi³, C. Bacci¹

¹Unità di Ispezione degli alimenti di origine animale, Dipartimento Scienze Medico-Veterinarie, Università di Parma; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, Strada dei Mercati, Parma; ³Unità di Microbiologia, Dipartimento Scienze Medico-Veterinarie, Università di Parma, Italy

L'Emilia Romagna è un'importante zona di allevamento suinicolo, grazie alla particolare conformazione del territorio e all'impiego di tecniche tradizionali. La regione vanta prodotti tipici, tra cui eccellenze nazionali, famose in tutto il mondo. *Salmonella enterica* occupa, come riportato nel report sulle zoonosi dell'European Food Safety Authority (EFSA) pubblicato nel 2021, il secondo posto nella classifica degli agenti responsabili di tossinfezioni alimentari, preceduta da *Campylobacter*. Il report EFSA 2021 sulle resistenze antimicrobiche evidenzia un aumento dei livelli di resistenza di *Salmonella*, nei confronti di antibiotici di elezione per il trattamento delle salmonellosi umane (beta-lattamici e fluorochinoloni). La tendenza all'aumento della resistenza antimicrobica (AMR) da parte di

batteri di origine animale e la loro potenziale trasmissione all'uomo, attraverso l'alimento, sono oggetto di crescente interesse negli ultimi anni. Lo studio vuole mettere in evidenza l'evoluzione della resistenza, in *Salmonella* isolata da carni suine fresche provenienti da allevamenti siti nella regione, ad alcuni antibiotici compresi nella lista dei Critical Important Antimicrobials (CIA). L'indagine è stata condotta in diverse fasce temporali, dal 2000 al 2003, dal 2012 al 2016 e dal 2018 al 2021. I ceppi isolati dai campioni carnei, dopo sierotipizzazione, sono stati testati fenotipicamente per le resistenze a tre classi di antibiotici: beta-lattamici (cefotaxime e ceftazidime), fluorochinoloni (ciprofloxacina e acido nalidixico) e polimixina E (colistina), mediante tecnica Kirby Bauer e Minimal Inhibitory Concentration (MIC). Per la genotipizzazione sono state impiegate le tecniche della Polimerase Chain Reaction (PCR) end point (*bla*_{MOXM}, *bla*_{CITM}, *bla*_{DHAM}, *bla*_{ACCM}, *bla*_{EBCM}, *bla*_{FOX1}, *mcr-1,2,3,4,5*, *GyrA*, *ParC*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*) e quella della PCR-Real Time (*bla*_{CTXM1}, *bla*_{CTXM2}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}). La percentuale media di isolamento di *Salmonella* è del 12,1%. Il 45,8% dei ceppi isolati hanno mostrato una resistenza fenotipica, che nel 38,3% dei casi si è confermata anche genotipicamente. L'andamento delle resistenze verso i beta-lattamici e i fluorochinoloni è in evidente crescita se si mettono a confronto i risultati ottenuti nel primo (16,7% e 16,7%) con quelli del terzo periodo (29,7% e 32,4%). Relativamente a colistina si segnala un andamento in netta decrescita, dal 33,3% al 5,4%. La resistenza fenotipica risulta confermata dallo studio molecolare nel 71,4% e nel 44,4% dei ceppi, rispettivamente per beta-lattamici e fluorochinoloni. Per la colistina, i ceppi fenotipicamente resistenti non presentano i geni ricercati, aspetto che potrebbe essere ricondotto a meccanismi di resistenza alternativi e di tipo aspecifico. In conclusione, i dati sono incoraggianti solamente per la resistenza che gli isolati evidenziano verso colistina; come noto, dal 2016, l'uso di questa molecola è stato drasticamente ridotto in ambito veterinario. La situazione è più preoccupante se si valutano le resistenze ai beta-lattamici e ai fluorochinoloni, considerando che questi antibiotici sono stati largamente utilizzati, nel corso degli ultimi decenni, come trattamenti di prima scelta nelle infezioni umane.

C05

EFFETTO DI TEMPO E TEMPERATURA NELLE FASI PRE-RAFFREDDAMENTO SUL LIVELLO IGIENICO DI CARCASSE DI CINGHIALE CACCIATO IN CENTRO ITALIA

D. Ranucci¹, R. Barbani², G. Lalinga², L. Bardasi³, G. Meriardi³, R. Branciarì¹, D. Miraglia¹, R. Roila¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia; ²AUSL Bologna; ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia e Emilia Romagna, Italy

In considerazione del recente interesse verso la costituzione di filiere di produzione di carne di ungulati selvatici cacciati, risulta importante definirne il livello igienico e i fattori che potrebbero influenzarne la qualità. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'effetto del tempo di gestione delle spoglie, e relative temperature prima del raffreddamento, sui principali indicatori di igiene di processo considerati per le carcasse a livello normativo. Sono stati presi in considerazione 30 cinghiali ottenuti da prelievo venatorio. In due momenti della filiera tra le quali le spoglie permangono in regime non refrigerato, successivamente all'eviscerazione e poco prima della collocazione in cella frigorifera, sono stati valutati il conteggio delle colonie aerobiche e la conta delle Enterobacteriaceae. I prelievi sono stati eseguiti con metodo non

distruttivo in due punti interni alla carcassa non ancora scuoiata (20 cm² ciascuno a livello di muscolo Psoas major e sulla gabbia toracica, con primo prelievo sulla carcassa di sinistra e secondo su quella di destra), e ogni volta è stata registrata la temperatura ambientale, quella delle carcasse e il tempo intercorso tra i due momenti di prelievo. Nell'elaborazione dei dati, tali parametri sono stati correlati con gli indicatori di igiene di processo considerati. I tempi medi intercorsi tra l'esecuzione dei due prelievi sono stati paria a 6 ore (da 2 a 10 ore), con temperatura ambientale media pari a 20,4°C. Durante il periodo di osservazione le carcasse hanno subito un abbassamento medio della temperatura di 9,6°C passando da una media di 36,2°C a 27,0°C. Sia i valori del conteggio delle colonie aerobiche che delle Enterobacteriaceae risultano aumentare nel tempo, rispettivamente di 0,68 Log UFC/cm² (p<0,05) e 1,01 Log UFC/cm² (p<0,01). I dati relativi ad entrambe gli indicatori esaminati sono risultati moderatamente correlati con il tempo di sosta (valori di 0,55 e 0,57 rispettivamente per il conteggio delle colonie aerobiche e la conta delle Enterobacteriaceae, p<0,05) ma non con il calo di temperatura delle carcasse. L'aumento è risultato significativamente maggiore per le carcasse il cui tempo tra i due prelievi superava le 6 ore. In conclusione, il mantenimento delle carcasse alle temperature ambientali tipiche delle zone di caccia del centro Italia comporta un calo delle temperature non repentino e un aumento del livello degli indicatori di igiene di processo considerati. Seppure preliminari, i dati evidenziano come, per limitare la moltiplicazione dei microrganismi nel contesto esaminato, il tempo di attesa tra le due fasi non debba superare le 6 ore.

C06

LA MACELLAZIONE DOMESTICA: TRA TRADIZIONE E SICUREZZA DEL CONSUMATORE

D. Mollica¹, D. Cristiano², F. Cacace³, S. Castellano², A. Mancusi², E. Delibato³, F.S. Castellano¹, M. Lorello¹, V. Rapestà¹, Y.T.R. Proroga⁴

¹ASL Napoli 3 Sud, Servizio Ispezione degli Alimenti di origine animale, ex UO Vet. 59, Penisola Sorrentina; ²Dipartimento Ispezione Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici (NA); ³Medico Veterinario Libero Professionista; ⁴Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Sicurezza alimentare, Nutrizione e Sanità pubblica veterinaria, Italy

La macellazione domestica dei suini rappresenta ancora oggi una tradizione ben radicata in molte regioni Italiane. La necessità di conciliare trazione e sicurezza del consumatore, ha spinto il legislatore, negli anni, a emanare norme che regolamentassero tali attività. Lo studio di questa realtà ha come scopo l'evidenziazione delle principali criticità rilevate durante la campagna di macellazione domestica 2019/2020 nella Penisola Sorrentina. Così come previsto dalla normativa vigente, tutte le macellazioni sono state concordate con il Servizio Veterinario dell'ASL competente. Lo studio ha focalizzato l'attenzione su 150 suini macellati in un anno allevati nel comune di Massa Lubrense, tutti sottoposti a visita ante e *post mortem*. Inoltre, su 75 di questi, sono stati anche effettuati controlli per la verifica della contaminazione superficiale delle carcasse così come previsto dal Reg (UE) 2073/2005 e s.m.i, il prelievo delle tonsille, per la ricerca di *Yersinia enterocolitica*, e di una porzione di muscolo per la ricerca di *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* produttore della tossina Shiga-tossine (VTEC) e *Y. enterocolitica*. L'esame *post mortem* ha evidenziato lesioni anatomiche multiorgano nel 12% dei soggetti, nell'8% presenza notevole di sangue nei polmoni mentre, il restante 80%, non presentava ano-

malie anatomopatologiche di rilievo. La valutazione dell'igiene di macellazione, effettuata attraverso l'analisi dei vari punti di prelievo, ha messo in evidenza livelli di carica batterica mesofila compresi tra 2,45 log-7,18 log (media 5,31log) per il guanciaie; per il lombo, valori compresi fra 1,90 log-7,08 log (media 5,16 log); per la coscia 2,00 log-7,08 log (media 5,13 log); per la pancia 1,70 log-7,15 log (media 5,31 log). La conta dell'enterobacteriaceae ha evidenziato; per il guanciaie valori compresi 0,00 log-5,18 log (media 2,69 log); per il lombo 0,00 log-5,72 log (media 2,57 log); per la coscia 0,00 log-5,18 log (media 2,57 log); per la pancia 0,00 log-5,18 log (media 2,70 log). L'analisi batteriologica di un pezzo di muscolo prelevato dalla zona addominale ha dato i seguenti esiti: mancato riscontro in tutti i campioni analizzati di *Salmonella* spp e *Y. enterocolitica*; il 16% dei suini sono risultati positivi per la presenza dei geni di patogenicità degli *E. coli* VTEC ed il 29,3% dei campioni ha portato all'isolamento di *Campylobacter*, di cui il 72,7% è stato identificato come *C. coli*, mentre nel 27,3% non è stato possibile l'identificazione. La ricerca della *Y. enterocolitica* dalle tonsille ha dato esito sempre negativo. Benché, la verifica della contaminazione superficiale delle carcasse abbia evidenziato condizioni igieniche migliori, rispetto a quelle riscontrate in un nostro precedente studio condotto su animali macellati in strutture riconosciute, il rilievo di reperti anatomico-patologici, quali la notevole presenza di sangue nei polmoni sottolinea ancora la necessità di implementare le attività di formazione dei norcini, soprattutto per la fase di stordimento e iugulazione degli animali.

C07

PRESENZA DEL VIRUS DELL'EPATITE E NEL FEGATO DI CINGHIALI (*SUS SCROFA*) ABBATTUTI A CACCIA NEL CENTRO ITALIA

G. Ferri¹, A. Piccinini¹, A. Olivastri², A. Vergara¹

¹Facoltà di Medicina Veterinaria, Scuola di Specializzazione in Ispezione degli Alimenti di Origine Animale "G. Tiecco", Università degli Studi di Teramo, Teramo; ²Servizio Veterinario I.A.O.A., ASUR Marche, Area Vasta 5 Ascoli Piceno/San Benedetto del Tronto, Italy

Il virus dell'epatite E (HEV) è un agente patogeno a carattere zoonosico, responsabile di numerosi casi di infezione nell'uomo. La trasmissione avviene per via oro-fecale; l'ingestione di alimenti contaminati rappresenta un importante fattore di rischio per la salute del consumatore. Le specie selvatiche, in particolar modo il cinghiale (*Sus scrofa*), sono i principali reservoir del virus; l'organo target è il fegato, da cui, per diffusione ematica, esso raggiunge diversi organi e tessuti tra cui quello muscolare. Le criticità di natura igienico-sanitaria connesse alla filiera carni di selvaggina in generale, e di cinghiale in particolare, soprattutto nelle aree del territorio nazionale dove questa specie trova condizioni ambientali particolarmente favorevoli, ci hanno indotto ad effettuare la presente indagine. Durante la stagione venatoria 2019/2020, sono stati campionati n. 156 fegati di cinghiale, prelevati da corate conferite presso il mattatoio di Ascoli Piceno. Per il rilievo dell'RNA virale è stata utilizzata Nested RT-PCR. Il sequenziamento degli ampliconi è stato eseguito presso BioFab Research (Roma). I risultati hanno dimostrato una positività del 5,12% (8/156), con circolazione nell'area geografica testata del genotipo 3 sottotipo c, il più frequentemente identificato nel Centro Italia. La rilevanza sanitaria dell'HEV ed il ruolo emergente di alcune filiere alimentari nella sua trasmissione impongono ulteriori approfondimenti. Lo screening molecolare dei fegati dei cinghiali abbattuti a caccia può dare importanti informazioni sulla

circolazione del virus nelle popolazioni selvatiche di una determinata area, e sull'impatto di questa sulle attività produttive.

C08

ASCESSI INTRADIAFRAMMATICI IN UN CINGHIALE SELVATICO (*SUS SCROFA*): IMPLICAZIONI ISPETTIVE SULLA BASE DI RILIEVI ANATOMOPATOLOGICI

A. Piccinini¹, G. Ferri¹, A. Olivastri², F. Rossi², A.R. Festino¹, A. Vergara¹

¹Facoltà di Medicina Veterinaria, Scuola di Specializzazione in Ispezione degli Alimenti di Origine Animale "G. Tiecco", Università degli Studi di Teramo; ²Servizio Veterinario I.A.O.A., ASUR Marche, Area Vasta 5 Ascoli Piceno/San Benedetto del Tronto, Italy

Nella corata di un esemplare adulto di cinghiale selvatico (*Sus scrofa*) sottoposta a visita ispettiva *post mortem*, ai sensi del Reg. UE 625/2017, del Reg. UE 624/2019 e della Legge Regione Marche 3/2012, sono stati osservati due accessi intradiaframmatici. Macroscopicamente, le lesioni hanno mostrato associati fenomeni aderenziali a carico delle strutture anatomiche contigue pleuriche, freniche e glissoniane. Una delle due ha presentato altresì fistola freno-addominale. L'indagine citopatologica dell'essudato, campionato sterilmente mediante tecnica FNA (Fine Needle Aspiration) e colorato con Diff Quick Stain, ha evidenziato la presenza di somi batterici con pattern di aggregazione "Streptococcus-like", su diffuso background amorfo. Indagini microbiologiche attraverso identificazione con sistema VITEK 2 (bioMérieux, Francia) e spettrometria di massa MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight), condotte sull'essudato purulento, hanno evidenziato la natura polimicrobica della lesione, con presenza di microrganismi tellurici, alcuni dei quali a marcata azione piogena (*Streptococcus* spp., *Sphingomonas* spp., *Carnobacterium* spp., *Lactobacillus* spp.). Gli accessi intradiaframmatici sono lesioni raramente riscontrate nell'uomo e nelle altre specie animali, domestiche e selvatiche, e possono essere causati da traumi penetranti. Nel caso descritto, le evidenze riscontrate e i risultati ottenuti permettono di formulare l'ipotesi patogenetica di contaminazione secondaria a trauma penetrante causato da proiettile non mortale. Queste lesioni rappresentano un rischio sanitario, in quanto potenzialmente correlate a fenomeni di batteriemia e setticemia, implicazioni che impongono dal punto di vista normativo il sequestro e la distruzione della carcassa. In virtù della particolare localizzazione anatomica intramurale e contiguità topografica ai grossi vasi arteriosi e venosi, tale rischio aumenta sensibilmente. Dal punto di vista normativo, l'obbligatorietà di conferimento all'Autorità Competente della intera corata, unitamente alla carcassa, risulta limitata ai capi di selvaggina cacciata destinati al circuito della commercializzazione. Invece, per quelli destinati alla cessione diretta e all'autoconsumo è previsto il conferimento di una sola aliquota di muscolo diaframmatico. In questi casi, la responsabilità dell'esame *post mortem* è demandata al cacciatore in qualità di "persona formata". Pertanto, sarebbe opportuno integrare e armonizzare le disposizioni cogenti in materia di ispezione delle carcasse di selvaggina di grossa taglia, introducendo l'obbligo di conferimento all'Autorità Competente della intera corata anche per quei capi destinati alla cessione diretta e all'autoconsumo. Tali implicazioni ispettive, originando dall'osservazione e descrizione interdisciplinare delle caratteristiche anatomopatologiche e microbiologiche delle lesioni, vengono direttamente proiettate sullo scenario normativo, fornendo al legislatore elementi utili a garantire la salute del consumatore.

C09

PREVALENZA E PROFILI DI ANTIMICROBICO RESISTENZA IN SALMONELLA SPP. NELLA FILIERA DELLE CARNI SUINEC. Lauteri¹, A.R. Festino¹, M. Conter², A. Vergara¹

¹Facoltà di Medicina Veterinaria, Scuola di Specializzazione in Ispezione degli Alimenti di Origine Animale "G. Tiecco", Università degli Studi di Teramo; ²Medico Veterinario, Parma, Italy

Il presente studio è volto ad analizzare la prevalenza e l'antimicrobico resistenza (AMR) di *Salmonella spp.* nella filiera suinicola. Sono stati esaminati n. 435 campioni: di questi n. 360 sono stati effettuati in macelli di suini da carcasce (n. 150), da contenuto cecale (n. 30), e da diversi siti degli ambienti di lavorazione (n. 180); ulteriori n. 75 campioni sono stati prelevati da insaccati stagionati. La valutazione della AMR e della concentrazione minima inibente è stata effettuata mediante sistema VITEK 2 bioMérieux e la presenza di geni codificanti AMR tramite Uniplex PCR. Gli antibiotici testati sono stati: ampicillina, amoxicillina-acido clavulanico, piperacillina, cefpodoxime, ceftifur, imipenem, amikacina, gentamicina, tobramicina, enrofloxacin, marbofloxacin, tetraciclina, nitrofurantoina, cloramfenicolo e trimetoprim. L'indagine genotipica ha riguardato i geni: *TetA*, *tetB*, *tetC* per le Tetraciline, *CatA1* per il cloramfenicolo, *AadA2*, *AadB* e *Aac(3)IV* per gli aminoglicosidi, *Bla-tem* e *Bla-pse* per i beta lattamici, *nfsA* e *nfsB* per la nitrofurantoina e *parC* per i fluorochinoloni. Sono stati isolati, identificati biochimicamente, genotipicamente e sierotipizzati n. 36 ceppi di *Salmonella spp.* I campioni saggiati hanno evidenziato le seguenti positività: 14,6% gli insaccati stagionati, 13,3% il contenuto cecale, 7,3% le carcasce e infine il 5,5% gli ambienti di macellazione. Il sierotipo maggiormente rappresentato è stato *Salmonella Typhimurium* 52,7%, in n. 3 casi nella variante monofasica. Sono stati inoltre rilevati: *S. Tiphya* 2,8%, *S. Enteritidis* 22,2%, *S. Rissen* 16,6% e *S. Derby* 5,5%. In relazione al cut-off della metodica impiegata, tutte le *Salmonelle* isolate (100%) sono risultate resistenti agli aminoglicosidi (amikacina e tobramicina) e alla gentamicina, 86,1% hanno mostrato resistenza alle tetraciline, 55,5% all'ampicillina e alla piperacillina, 25% al trimetoprim, 5,5% al cloramfenicolo e 2,8% all'amoxicillina/acido clavulanico e alla nitrofurantoina. Il 27,7% ha evidenziato resistenza verso n. 3 classi di antibiotici, il 25% verso n. 4 classi di antibiotici e il 2,8% verso n. 6 classi di antibiotici. Dei 9 campioni che presentavano resistenza a 4 classi di antibiotici n. 8 provenivano da prodotti carnei fermentati; il campione che ha mostrato resistenza a 6 classi di antibiotici proveniva da un pozzetto di scolo. I geni di resistenza isolati con maggior frequenza sono stati *CatA* per il cloramfenicolo (94,4%), *NfsA* (77,7%) e *NfsB* (86,1%) per i nitrofurani e *ParC* per i fluorochinoloni (100%). Per quanto attiene la AMR verso cefalosporine di terza generazione e fluorochinoloni, identificati come "Critically important antimicrobials" (CIA), tutti i ceppi presi in esame sono risultati sensibili al cefpodoxime, alla marbofloxacin e all'enrofloxacin e solo il 2,8% è risultato resistente al ceftifur. Il presente studio mostra la circolazione di *Salmonelle* che veicolano AMR in tutta la filiera suinicola, ponendo l'accento sul potenziale ruolo sanitario degli alimenti di origine animale.

C10

ANTIMICROBICO RESISTENZA DI BATTERI ISOLATI IN UN MACELLO SUINOP. Rodríguez-López^{1*}, S. Ghidini¹, S. De Luca¹, A.C. Simon¹, G. Liuzzo², L. Poli³, A. Ianieri¹, E. Zanardi¹

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Università di Parma;

²Medico Veterinario Dirigente AUSL Modena; ³Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie, Università di Parma, Italy

Lo scopo di questo lavoro è stato valutare il livello di resistenza ad antimicrobici critici, sia in campo veterinario che umano, di batteri isolati in un macello di suini pesanti ad elevata produttività (approx. 4600 suini/giorno). Sono stati effettuati 4 campionamenti, preoperatori e operativi, che prevedevano prelievi ambientali, i.e. aria (campionamento attivo; $n_{totale}=32$) e superfici (sponge bag 100 cm²; $n_{totale}=32$), in quattro postazioni diverse: due nella zona sporca e due nella zona pulita. Sono state, inoltre, campionate 5 carcasce, come da Reg. (CE) 2073/2005, in 2 tempi diversi di macellazione ($n_{totale}=40$). Complessivamente, sono state isolate su Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) ed identificate biochimicamente $n=60$ colonie scelte casualmente in base alla loro morfologia. Gli isolati appartenevano a 10 famiglie, 15 generi e 20 specie diverse. Le *Enterobacteriaceae* ($n=22$), *Moraxellaceae* ($n=14$) e *Pseudomonadaceae* ($n=9$), sono state le tre famiglie più rappresentate. Successivamente, sono state saggiate le caratteristiche di resistenza antimicrobica degli isolati ed è stata determinata la MIC utilizzando il sistema Sensititre™ - Vizion™ con pannello EUVSEC3 che includeva antibiotici classificati come critici in medicina veterinaria (Cloramfenicolo, Sulfametoxazolo, Tetraciclina, Trimetoprim), in medicina umana (Acido Nalidixico, Colistina, Meropenem) o in entrambe (Amikacina, Ampicillina, Azitromicina, Cefotaxime, Ceftazidima, Ciprofloxacina, Gentamicina, Tigeciclina). Dei 60 isolati, 23 non presentavano resistenza ad alcuna delle molecole saggiate e 37 sono risultati resistenti ad almeno uno degli antibiotici del pannello. 17 di questi isolati sono stati classificati come multi-resistenti (i.e. resistenza a 3 o più classi di antibiotici). Le specie che presentavano multiresistenza sono state: *Escherichia coli* ($n=9$), *Pseudomonas fluorescens* ($n=2$), *Serratia liquefaciens* ($n=2$), *Acinetobacter baumannii* ($n=1$), *Aeromonas spp.* ($n=1$), *Pantoea agglomerans* ($n=1$), *Pseudomonas putida* ($n=1$). Tali specie sono state isolate da aria ($n=6$ preoperative e $n=5$ operative), da superfici ($n=1$ preoperativo e $n=1$ operativo) e da carcasce ($n=4$). Complessivamente, le *Enterobacteriaceae*, in particolare *E. coli*, presentavano elevati valori di MIC nei confronti di Trimetoprim, Ampicillina, Tetraciclina e Sulfametoxazolo con MIC_{max} di 16, 32, 32 e 512 mg/L, rispettivamente. Inoltre, sono stati osservati in microorganismi quali *Pseudomonas spp.* alti valori di MIC nei confronti di antibiotici critici, come l'Ampicillina (MIC_{max}=32 mg/L) e l'Azitromicina (MIC_{max}=64 mg/L). I risultati hanno evidenziato la presenza di ceppi batterici resistenti e multiresistenti ad antibiotici critici in terapia veterinaria e umana. Tale riscontro può fare ipotizzare che l'ambiente di lavorazione considerato possa rappresentare un potenziale fattore di diffusione di batteri antimicrobico resistenti attraverso i prodotti e gli operatori.

C11

PSEUDOMONAS SPP. E ALTERAZIONE CROMATICA IN CARCASSE DI CONIGLIO: POSSIBILI IMPLICAZIONI SANITARIE

G. Casalino, E. Circella, A. Camarda, A. Schiavone, E. Ceci, D. Romito, G. Bozzo

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

Lo scopo di questo report è quello di descrivere un caso di colora-

zione anomala verificatasi su alcune carcasse di coniglio durante la loro conservazione nella cella frigorifera dell'impianto di macellazione in attesa della vendita e identificare l'agente eziologico coinvolto. Le carcasse provenivano da conigli di un allevamento industriale provvisto di impianto di macellazione regolarmente autorizzato. I conigli allevati appartenevano a ibridi commerciali per la produzione di carne e alla visita ante mortem non presentavano alcun segno clinico. All'esame ispettivo, le carcasse erano esenti da qualsiasi lesione o alterazione. Presso l'impianto di macellazione era presente una cella frigorifera, in cui le carcasse venivano conservate prima della vendita per un periodo variabile tra le 24 ore e 3 giorni, ad una temperatura di 4-6°C. Su alcune carcasse è stata evidenziata la comparsa di una alterazione superficiale delle carni con la comparsa di una colorazione blu. Quattro di queste carcasse sono state inviate al Dipartimento di Medicina Veterinaria di Bari, per l'esecuzione di indagini di laboratorio. Le indagini batteriologiche sono state effettuate a partire da tamponi sterili, inumiditi in soluzione fisiologica sterile, strofinati sulle carcasse in corrispondenza delle alterazioni di colore e porzioni di tessuto di circa un cm². Tutti i campioni sono stati immessi in acqua peptonata tamponata nel rapporto di 1:10, incubati per 24 ore in aerobiosi a 37°C e ripassati su terreni arricchiti (TrypticaseSoy Agar -Oxoid, Milano) e selettivi (Pseudomonas Agar Base-Oxoid, Milano, Italia), incubati nelle stesse condizioni. L'identificazione delle colonie è stata ottenuta tramite test biochimici in micro-metodo (Api 20NE-BioMerieux). Dalle colonie isolate, è stata allestita una sospensione batterica in concentrazione pari a 1x10⁸ ufc/mL, successivamente distribuita con tamponi sterili sulla superficie di tre carcasse di coniglio, per riprodurre sperimentalmente l'alterazione cromatica osservata. Le carcasse sono state poste in cella frigorifera a 4°C, tenute sotto osservazione per i tre giorni successivi e, da queste, il germe è stato nuovamente isolato e identificato. Dagli esami batteriologici eseguiti, sono state ottenute colonie batteriche uniformi con pigmentazione fluorescente tipica di *Pseudomonas (P.) fluorescens*, confermate biochimicamente come *P. fluorescens*. Nella prova di riproduzione sperimentale dell'alterazione cromatica, già dopo 24 ore di refrigerazione si evidenziava la comparsa della colorazione blu sulle carni. Dalle carcasse contaminate sperimentalmente è stato re-isolato *P. fluorescens*. *P. fluorescens* è risultato responsabile dell'alterazione cromatica descritta. Sono in corso ulteriori indagini biomolecolari volte a caratterizzare il batterio. Queste risulteranno importanti, alla luce di una recente segnalazione di *P. azotoformans*, inizialmente identificato attraverso test biochimici come *P. fluorescens*. Sebbene tali batteri non siano ad oggi considerati, in ambito di legislazione Europea e Nazionale e quindi non siano stati stabiliti limiti di accettabilità negli alimenti, essi dovrebbero essere monitorati nei piani di autocontrollo del settore alimentare, in quanto rendono tali prodotti inadatti al consumo in base all'articolo 14 comma 5 del Reg. (CE) n. 178/2002. La commercializzazione di prodotti in stato di alterazione rientra in quanto previsto dall'art. 5 della Legge n. 283/1962.

C12

RACCOLTA E ANALISI DEI RILIEVI ISPETTIVI EPATICI OTTENUTI PRESSO DIVERSI MACELLI BOVINI IN LOMBARDIA E IN PUGLIA

S. Stella¹, E. Tirloni¹, C. Bernardi¹, G. Acerbis¹, T. Manginelli²

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Lodi; ²ASL Bari, Italy

Il macello rappresenta un punto privilegiato per la raccolta di informazioni su problematiche di sanità animale e tecnopatie, fungendo così da "osservatorio epidemiologico". Questo studio ha valutato i dati ottenuti dall'ispezione *post mortem* di 64.766 bovini macellati nel periodo 2016-2020 presso tre diversi macelli situati in Lombardia (stabilimenti A e B) e in Puglia (stabilimento C). Sono state registrate, in particolare, le lesioni epatiche che hanno determinato la non idoneità al consumo dei fegati colpiti. Sono state calcolate le frequenze di specifiche lesioni e l'influenza di diversi fattori (categoria/età degli animali, area geografica, stagionalità, stabilimento). La composizione della popolazione di animali macellati in Lombardia è dominata dalla percentuale di vacche (70-75%), cui seguono, in ordine di frequenza, le manze (10-12%) e i vitelloni. La popolazione di animali macellati presso lo stabilimento situato in Puglia, al contrario, è composta principalmente da animali giovani (87% di animali di età 8-30 mesi). La frequenza totale di lesioni epatiche è risultata pari all'8%, con alcune differenze fra le tre strutture di macellazione, che però sono legate a vari fattori (composizione della popolazione animale, area geografica, modalità di notifica). Una differenza significativa è stata rilevata nelle diverse classi di animali, sia considerando le categorie (vacche >tori >vitelloni/manze >vitelli) sia le classi di età (con una frequenza significativamente superiore negli animali di età >30 mesi). La steatosi è risultata la lesione più diffusa (circa 1/3 del totale, considerando l'intera popolazione di animali), seguita dall'epatite apostematosa, dalla distomatosi e dalla periepatite. La steatosi rappresenta circa metà delle lesioni rilevate nelle vacche (quasi esclusivamente allevate per la produzione di latte) e degli animali di età >30 mesi, mentre l'epatite apostematosa è stata osservata soprattutto nei vitelloni (circa il 50% delle lesioni), allevati con razioni ricche di concentrato, e nelle manze (circa 1/5) e in generale negli animali di età <30 mesi. Il confronto fra il contesto lombardo (allevamento più intensivo) e pugliese (maggiore ricorso al pascolo), effettuato considerando le stesse categorie di bovini, ha mostrato una netta differenza soprattutto per quanto riguarda la steatosi (molto più diffusa in Lombardia) e la distomatosi (che, all'opposto, è più frequente in Puglia). Considerando i dati su base stagionale, è risultata evidente una maggiore frequenza della steatosi nelle stagioni più calde, e una maggiore prevalenza relativa dell'epatite apostematosa nella stagione più fredda, mentre trend meno evidenti sono stati rilevati per le altre lesioni. Infine, è stato valutato il fattore "macello", confrontando animali appartenenti alla stessa categoria e provenienti dalla stessa area geografica (macelli A e B): una maggiore frequenza di lesioni è stata osservata nel macello B, ma alcune differenze erano legate alla diversa classificazione/denominazione delle lesioni. In conclusione, da questo lavoro risulta chiara la necessità di assicurare un flusso di informazioni uniformi per fornire un utile strumento al veterinario ispettore e all'allevatore. La massima attenzione va dunque posta all'uso di strumenti di registrazione delle lesioni (codifiche uniformi, strumenti tecnologici) e ad un uso razionale delle Informazioni sulla Catena Alimentare (comprese quelle "di ritorno").

C13

EFFETTO DEL PACKAGING E DELLE CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE SU ALCUNE CARATTERISTICHE QUALITATIVE DELLE CARNI BOVINE

L. Grispoli¹, A. Chalias^{1,2}, E. Barzi¹, L. Pecorari¹, B.T. Cenci-Goga^{1,3}

¹Medicina Veterinaria, Laboratorio di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Università degli Studi di Perugia, Italy; ²European Food Safety

Authority, EU-FORA Programme, Parma, Italy; ³University of Pretoria, Faculty of Veterinary Science, Department of Paraclinical Sciences, Onderstepoort, South Africa

SCOPO: Il packaging è considerato come uno degli aspetti tecnologici più interessanti e una materia in continua evoluzione nella produzione alimentare. Il tipo di packaging oggi risulta molto importante, in particolare per l'aspetto visivo del prodotto che viene subito valutato dal consumatore così come per la qualità e la sicurezza del prodotto all'interno delle confezioni stesse. Scopo di questo studio è stato quello di indagare l'effetto di due diversi tipi di packaging in atmosfera modificata (ATM) e skin attualmente utilizzati in una azienda dell'Italia centrale e due nuove soluzioni a ridotto impatto ambientale e compostabili, sulle principali caratteristiche qualitative della carne bovina. **METODI:** Il packaging ATM attualmente in uso è costituito da un vassoio di polistirolo espanso estruso, laminato con film multistrato barriera a gas per il confezionamento in atmosfera protettiva mentre quello "nuovo" è costituito da una vaschetta in polietilene tereftalato mono packaging. Il packaging skin attualmente in uso è costituito da un accoppiato duplice termoformabile, mentre la nuova proposta è costituita da carta riciclabile. Per ogni tipo di packaging sono stati analizzati due prodotti diversi: fettine e hamburger. I campioni, subito dopo il confezionamento in azienda, sono stati trasportati presso il laboratorio di Ispezione degli alimenti di origine animale del Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università di Perugia. Sono stati valutati cinque diversi parametri (colore, pH, water holding capacity, drip loss e caratteristiche microbiologiche) al tempo 0 e dopo 7 (T7), 14 (T14) e 21 giorni (T21) di conservazione al buio e a temperatura di refrigerazione. **RISULTATI:** I risultati ottenuti hanno mostrato che i due tipi di packaging hanno effetti molto simili sulla capacità di trattenere l'acqua delle fettine. Differenze più marcate sono state evidenziate dalle analisi colorimetriche effettuate sia sulle fettine che sugli hamburger: i prodotti confezionati nei packaging già in uso apparivano più luminosi e più rossi rispetto a quelli confezionati nei packaging "nuovi". Le analisi microbiologiche sulle fettine hanno mostrato valori mediamente più alti nei packaging "nuovi", mentre non sono state osservate differenze statisticamente significative negli hamburger. In uno dei campioni in confezione atmosfera modificata "nuova" al T21 è stata osservata la formazione di abbondante "ropy slime". **CONCLUSIONI:** I risultati ottenuti in questo studio hanno mostrato che le caratteristiche tecnologiche (in particolare il colore) e quelle microbiologiche delle fettine e degli hamburger erano migliori nei packaging "vecchi", i quali sembrano possedere un aspetto migliore e garantire una shelf life più prolungata. I risultati ottenuti dimostrano come la ricerca di prodotti ecosostenibili per il packaging vada affrontata tenendo sempre in considerazione l'effetto dei materiali sulle caratteristiche qualitative e igienico-sanitarie delle carni.

Venerdì 17 settembre 2021

Sessione LATTE e TEMI VARI

C14

STUDIO SULL'EFFICACIA DELL'OZONO GASSOSO PER IL CONTROLLO DI BIOFILM DI ISOLATI DI PSEUDOMONAS SPP. DA INDUSTRIA LATTIERO-CASEARIA

F. Panebianco, S. Rubiola, F. Chiesa, T. Civera, P. Di Ciccio

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Grugliasco (TO), Italy

I batteri appartenenti al genere *Pseudomonas* spp. sono tra i principali microrganismi alteranti in grado di formare biofilm. La prevenzione e la gestione delle contaminazioni da *Pseudomonas* spp. rappresenta una delle principali sfide che gli operatori del settore lattiero-caseario sono chiamati ad affrontare. A tal riguardo l'utilizzo dell'ozono come sanificante "green" nel settore lattiero-caseario potrebbe riscuotere particolare attenzione. Ad oggi, i dati in letteratura sull'efficacia dell'ozono gassoso per il controllo di biofilm batterici sono scarsi e frammentari. L'obiettivo del presente studio è stato, pertanto, quello di valutare l'efficacia dell'ozono gassoso a 50 ppm per un tempo di applicazione di 6 ore per il controllo del biofilm di *Pseudomonas* spp. isolati da industria lattiero-casearia sia in termini di inibizione che di eradicazione. Le prove *in vitro*, mediante l'impiego di un apparecchio erogatore di ozono con annessa camera di prova e sensore concentrazione di ozono, sono state effettuate su n. 21 isolati di *Pseudomonas* spp. classificati come biofilm-formanti secondo la metodica descritta da Stepanovic et al., 2007. Per quanto riguarda l'inibizione del biofilm, è stata valutata la capacità degli isolati a formare biofilm su polistirene dopo essere stati sottoposti a stress ossidativo mediante ozono gassoso. L'eradicazione, invece, è stata valutata su biofilm pre-costituito (24h) su polistirene. Gli isolati biofilm-formanti sono stati raggruppati in quattro categorie: fortissimi produttori, forti/moderati produttori, deboli/moderati produttori e deboli produttori di biofilm. L'efficacia dell'azione inibitoria dell'ozono gassoso (50 ppm - 6h) è stata osservata nei confronti di isolati appartenenti alle categorie deboli e deboli/moderati produttori di biofilm (100%). Si è riscontrata, invece, una efficacia parziale sui ceppi appartenenti alle categorie fortissimi (27%) e forti/moderati produttori di biofilm (50%). Il trattamento con ozono gassoso (50 ppm - 6h) non è stato in grado di eradicare il biofilm pre-formato degli isolati appartenenti alle categorie fortissimi produttori di biofilm e solo parzialmente in quelli appartenenti alla categoria forti/moderati produttori di biofilm (14%). Al contrario, il trattamento si è dimostrato efficace nell'eradicare il biofilm pre-costituito di tutti gli isolati appartenenti alle categorie deboli e deboli/moderati produttori di biofilm (100%). Questi dati preliminari suggeriscono che l'ozono gassoso potrebbe rappresentare una strategia eco-sostenibile per il controllo del biofilm di *Pseudomonas* spp. su cui investire. In conclusione, sono necessari ulteriori ricerche ed approfondimenti su un numero maggiore di isolati biofilm-formanti a diverse concentrazioni di ozono e tempi di trattamento nonché su differenti superfici per ampliare le informazioni raccolte e predisporre, così, i parametri di impiego nelle prove in campo per l'implementazione della sanificazione degli ambienti di produzione nel settore lattiero-caseario.

C15

MESSA A PUNTO DI UN METODO DI CROMATOGRAFIA LIQUIDA AD ALTA PRESTAZIONE PER LA DETERMINAZIONE DI LIVELLI DI BISFENOLO F NEL LATTES. Santonicola¹, M.C. Ferrante², G. Colavita¹, R. Mercogliano²¹Dipartimento di Medicina e di Scienze della Salute "V. Tiberio", Università degli Studi del Molise; ²Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi Federico II, Napoli, Italy

Il Bisfenolo A (BPA) è il composto meglio conosciuto del gruppo dei bisfenoli utilizzati nella produzione industriale di materiali in policarbonato ed epossiresine destinati al contatto con bevande e alimenti. Il Bisfenolo (BPF) è uno degli analoghi del BPA più comunemente usati. Il latte è considerato un'importante fonte di esposizione ai bisfenoli. Il BPA ed i suoi analoghi come il BPF possono entrare nella filiera di produzione del latte a partire dalla produzione primaria in seguito alla contaminazione ambientale dell'area in cui gli animali sono allevati. Successivamente la contaminazione da bisfenoli nel latte può avvenire, durante le diverse fasi di processo presso gli impianti di produzione del latte, in seguito alla migrazione da componenti e parti plastiche degli impianti (valvole, tubi, raccordi), ai trattamenti termici utilizzati e a materiali e modalità del confezionamento. La presenza di analoghi del BPA, e in particolare del BPF, in alimenti come il latte, ampiamente consumati da bambini e adulti, rappresenta una fonte di preoccupazione per la salute del consumatore. Lo scopo del lavoro è stato validare una metodica selettiva e sensibile per la determinazione dei livelli di BPF nel latte. È stato sviluppato un metodo basato sull'estrazione in fase solida del BPF e analisi mediante un sistema cromatografico associato a rivelatore fluorimetrico (HPLC/FP). Le curve di calibrazione sono state ottenute con il metodo dello standard esterno a cinque livelli di concentrazione (da 0,1 a 100 µg/L). La percentuale di recupero è stata calcolata con l'arricchimento del bianco con due concentrazioni di BPF (10,0 e 50,0 µg/L). La precisione del metodo è stata valutata come ripetibilità e precisione intermedia a due livelli di concentrazione (10,0 e 50,0 µg/L). Il metodo validato è stato preliminarmente applicato a campioni di latte crudo, pastorizzato e confezionato prelevati in un impianto di produzione del latte. Sulla base di un sistema di controllo basato sul monitoraggio di 5 fasi della produzione, per 4 settimane sono state raccolte 5 aliquote di latte: a) latte crudo al ricevimento; b) latte crudo all'interno della vasca di stoccaggio; c) latte pastorizzato alla fine del trattamento; d) latte pastorizzato dalla vasca di stoccaggio; e) latte confezionato in un poliaccoppiato cartone-Polietilene dichiarato BPA-free. Il metodo HPLC ha mostrato un'elevata percentuale di recupero (da 97,60 a 107,16%) e un buon limite di determinazione e quantificazione (LOD=0,03 µg/L; LOQ=0,1 µg/L). La ripetibilità è risultata pari a 1,013 (50 µg/L) e 3,98 (10 µg/L) % RSD, mentre la precisione intermedia è risulta essere 14,83 (50 µg/L) e 5,481 (10 µg/L) % RSD. L'analisi di n.20 campioni di latte ha evidenziato livelli di BPF compresi tra <LOQ e 2,956 µg/L. I risultati hanno evidenziato la presenza di concentrazioni medie ridotte nei campioni di latte crudo prelevato dalla vasca di stoccaggio (0.268 µg/L), intermedie nel prodotto confezionato (0.404 µg/L) e maggiori nel latte pastorizzato prelevato dalla vasca di stoccaggio (1.211 µg/L). La similitudine strutturale e tossicologica del BPA e del BPF suggerisce la necessità di una più inclusiva valutazione del rischio legato al consumo di latte. Nell'applicazione di sistemi di monitoraggio del rischio chimico negli impianti di produzione del latte l'uso del metodo può favorire una efficace valutazione di potenziali livelli di BPF nel prodotto.

C16

UTILIZZO DI COLTURE PROTETTIVE COME INNOVAZIONE TECNOLOGICA PER MIGLIORARE LA SICUREZZA ALIMENTARE IN FORMAGGI OVINI PORZIONATI PRODOTTI IN SARDEGNAC. Scarano¹, F. Piras¹, M. Demontis¹, V. Spanu¹, M.P. Meloni¹, G. Siddi¹, R. Sanna¹, M. Cuccu¹, G. Nieddu², E.P.L. De Santis¹,¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari; ²Cooperativa Allevatori Ovini Soc. Coop. Agricola, Oristano, Italy

L'attività di ricerca, svolta in collaborazione con un'azienda leader del comparto caseario della regione Sardegna, aveva come obiettivo la valutazione dell'utilizzo dell'innovazione tecnologica delle colture protettive commerciali nei processi di produzione di formaggi a latte ovino al fine di contrastare lo sviluppo e la moltiplicazione di *Listeria monocytogenes* (LM). I prodotti presi in esame erano a base di latte pastorizzato, e pertanto possibili fonti di contaminazione da LM potevano essere rappresentate dalle fasi di porzionamento e confezionamento. Queste fasi, infatti, sono quelle in cui la superficie del prodotto è esposta a possibili contaminazioni post-processo. L'azienda ha manifestato l'esigenza di valutare il rischio potenziale di eventuali contaminazioni da LM, anche in considerazione delle caratteristiche intrinseche ed estrinseche del prodotto (shelf-life prolungata, temperatura di stoccaggio di circa +4°C, a_w e pH permissivi e condizione di microaerofilia dopo confezionamento sottovuoto), che rappresentano condizioni favorevoli allo sviluppo di LM. La sperimentazione è stata condotta su due linee di produzione, la prima (A) rappresentata da un formaggio con stagionatura di circa 20 giorni e la seconda (B) rappresentata da un formaggio con stagionatura superiore al mese. In una fase preliminare, si è proceduto alla sperimentazione *in vitro* per valutare l'efficacia della coltura protettiva selezionata. Successivamente, presso il caseificio, si è proceduto alla produzione sperimentale di due tipologie di prodotto, una inoculata con la coltura protettiva da testare e una senza inoculo (controllo). Tutti i campioni sperimentali sono stati conservati presso il caseificio fino a fine stagionatura. Successivamente, le forme confezionate intere e sottovuoto, venivano trasportate presso il Dipartimento di Medicina Veterinaria. Qui si è proceduto al porzionamento in spicchi, all'inoculo sperimentale con un mix di ceppi di LM, atto a simulare una contaminazione post processo durante la fase di porzionatura e infine al confezionamento sottovuoto. I campioni così trattati venivano stoccati a due differenti temperature, a +4°C e a +10°C per simulare un abuso termico. La ricerca di LM veniva effettuata in triplicato per il prodotto A al tempo T₀ (giorno successivo all'inoculo con LM) e dopo 120 giorni, mentre per il prodotto B, al tempo T₀ (giorno successivo all'inoculo con LM), dopo 120 e dopo 150 giorni. I risultati ottenuti hanno evidenziato una apprezzabile efficacia della coltura utilizzata nel contrastare LM. L'entità della riduzione del patogeno si è dimostrata comunque contenuta e pertanto deve essere intesa quale integrazione ad altre misure di controllo e in nessun caso, può risultare sostitutiva di queste ultime. I risultati ottenuti confermano un possibile contributo di tali colture protettive per incrementare gli ostacoli atti a ridurre la persistenza o l'eventuale sviluppo di LM nel corso della conservazione. La sperimentazione, finalizzata a riprodurre i livelli di contaminazione dei prodotti porzionati, ha evidenziato in generale la capacità di questa coltura protettiva nel promuovere nel corso della shelf-life una riduzione dei livelli di LM in questa tipologia di prodotto.

C17

GONFIORE TARDIVO IN FORMAGGIO “GROTTONE”: RILEVAMENTO DI CLOSTRIDI E STRATEGIE DI CONTENIMENTOM.F. Peruzi¹, G. Blaiotta², M. Aponte², M. de Sena², N. Murru¹

¹Dipartimento of Medicina veterinaria e Produzioni Animale, Università degli Studi di Napoli “Federico II”, Napoli; ²Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli “Federico II”, Portici (NA), Italy

Il Grottone è un formaggio stagionato a latte pastorizzato, a pasta dura che coniuga le caratteristiche del provolone all’occhiatezza del formaggio tipo Emmenthal, sviluppato da un caseificio situato nella zona del Sannio (Campania). Naturalmente, le condizioni create per lo sviluppo dei propionibatteri usati come starter secondario creano le condizioni predisponenti allo sviluppo dei clostridi responsabili del gonfiore tardivo: un’alterazione causa d’ingenti perdite in questo prodotto e, in generale all’industria dei formaggi stagionati. [i]Clostridium (C[*i*].) tyrobutyricum, C. butyricum e C. sporogenes - le specie maggiormente implicate in questo processo - possono essere presenti direttamente sull’animale, nell’ambiente di allevamento, sulle attrezzature di mungitura e nei mangimi, in particolare gli insilati. Scopo del lavoro è stato l’individuazione del metodo più efficace per quantificare le spore nel latte e di una strategia adeguata al controllo della germinazione delle spore durante la stagionatura. Come primo passo, sono stati confrontati 5 diversi metodi per il conteggio di spore in campioni alimentari e segnatamente: MPN in brodo Bryant e Burkey, Reinforced Clostridial Medium (RCM) e Skim Milk modificato, UFC in RCM e in Tryptone Sulfite Neomycin agar. La contaminazione da spore di clostridi è stata studiata in 43 campioni di latte vaccino crudo e in 11 campioni di formaggio Grottone con difetto di gonfiore tardivo. In aggiunta, è stata valutata l’efficacia dei principali antimicrobici proposti per controllare i clostridi. Lisozima, nisina, nitrito di sodio e un ceppo di *Lactocaseibacillus (Lb.) casei* commercializzato come coltura protettiva sono stati saggiati contro C. sporogenes ATCC1143 dopo 7 giorni di esposizione. Infine, l’attività di 3 formulazioni commerciali di lisozima sono stati testate (0.5, 0.33 e 0.25 mg/mL) contro C. sporogenes e *Staphylococcus xylosum*. La quantificazione delle spore adoperando 5 diverse tecniche ha prodotto risultati spesso non sovrapponibili e il metodo MPN in Bryant e Burkey medium si è rivelato il più accurato: il sollevamento del tappo di paraffina da produzione di gas consente una interpretazione scevra da incertezze. Il 42% dei campioni di latte sono risultati contaminati da spore di clostridi e, come prevedibile, il 100% dei campioni di formaggio. Tuttavia, sebbene prelevati dalla stessa azienda, i formaggi non sono stati prodotti a partire dal latte analizzato nel corso della presente indagine e pertanto una precisa correlazione tra le due matrici non può essere fatta. La sensibilità di C. sporogenes agli antimicrobici testati è risultata influenzata dal substrato impiegato per la sperimentazione. In particolare, la coltura protettiva di *Lb. casei* e il nitrito di sodio erano in grado di inibire la germinazione delle spore di C. sporogenes in Litmus milk, ma non in RCM, mentre sia il lisozima, sia la nisina non esercitavano inibizione né sulle cellule vegetative né sulle spore. Non tutte le formulazioni di lisozima hanno esibito la medesima efficacia. Un lisozima commerciale ha mostrato un effetto inibitorio significativamente più elevato verso entrambi gli indicatori. L’efficacia dei coadiuvanti tecnologici suggeriti per il controllo del gonfiore tardivo è minata anche dalla loro incostanza qualitativa; di converso le biotecnologie microbiche si sono dimostrate una strategia promettente per controllare la crescita dei clostridi nel formaggio e per prevenire il gonfiore tardivo.

C18

VALUTAZIONE DEL PROFILO DI RISCHIO MICROBIOLOGICO DI FORMAGGIO ARTIGIANALE A PASTA MOLLE SQUACQUERONE D.O.P. E DELL’IMPIANTO DI PRODUZIONE IN DIFFERENTI PERIODI STAGIONALIC. Crippa¹, F. Pasquali¹, A. Lucchi¹, L. Gambi¹, A. De Cesare¹

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

SCOPO. Gli obiettivi del presente studio sono stati la valutazione della presenza di batteri patogeni e l’enumerazione di enterobatteri, conta microbica totale e batteri lattici nel formaggio a pasta molle “Squacquerone D.O.P.”, e relativo ambiente di produzione in differenti periodi stagionali (estate e inverno). METODI. Presso lo stabilimento sono stati prelevati campioni (n=5) di materie prime (latte crudo, latte pastorizzato e caglio di vitello), formaggio pre e post-maturazione, prodotto finito confezionato. Il prodotto finito è stato conservato per 15 giorni a tre temperature: 2°C, 8°C e 2°C per 5 giorni seguiti da 8°C per 10 giorni. Sono stati inoltre prelevati tamponi (n=5) ambientali da ciascuna area di lavorazione. In totale sono stati raccolti 270 campioni appartenenti a due lotti di produzione e testati per enumerazione di conta microbica totale (ISO 4833-2:2013). In aggiunta, i campioni di materie prime e formaggio sono stati testati per enumerazione di enterobatteri (ISO 21528-2:2017) e batteri lattici (ISO 15214:1998). In parallelo è stata condotta l’identificazione di *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1:2017), *Salmonella spp.* (ISO 6579-1:2017), *Staphylococcus aureus* (ISO 6888-1/A1:2004) e *Klebsiella spp.* (isolamento su MacConkey agar). Sui campioni di materie prime e formaggio sono stati inoltre misurati pH e aw. Gli isolati sono stati confermati mediante test biochimici e PCR. Eventuali differenze significative (p < 0.05) tra i lotti e durante la shelf-life sono state determinate da un test di analisi della varianza (ANOVA) seguito da un test di Bonferroni per l’analisi di comparazione post-hoc. RISULTATI. In relazione all’enumerazione di enterobatteri, sono stati riportati in entrambi i lotti valori al di sotto del limite di detection (<10 log UFC/g). Dalla conta microbica totale non sono emerse differenze significative fra i due lotti per i campioni di materie prime e ambientali, mentre sono state evidenziate differenze significative (p < 0.05) nel corso della shelf-life. Per i batteri lattici non sono emerse differenze significative fra i due lotti. Riguardo l’isolamento di batteri patogeni, in entrambi i lotti sono stati identificati ceppi appartenenti ai generi *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*. Per *K. oxytoca*, nel lotto estivo sono stati identificati due isolati rispettivamente raccolti dalla camera di maturazione e nel formaggio confezionato, mentre nel lotto invernale sono stati identificati 9 isolati rispettivamente dalla materia prima, dalla camera di maturazione e nel formaggio durante la shelf-life. *K. pneumoniae* è stata invece isolata nel formaggio conservato a 2°C a 4 e 15 giorni di shelf-life per il lotto estivo ed invernale rispettivamente. *S. aureus* è stato identificato nel lotto invernale nel formaggio conservato a 2°C (giorno 1, 4, 8 e 11). Infine, è stato riportato un lieve decremento del pH e incremento dell’aw nel corso della shelf-life, sebbene a livello non significativo. CONCLUSIONI. Il lotto invernale ha mostrato un livello di carica microbica totale significativamente più alto rispetto al lotto estivo nel corso della shelf-life, mentre non sono state riscontrate differenze significative relative ai batteri lattici. Tale risultato è stato affiancato da un maggiore numero di ceppi di *K. oxytoca* e *S. aureus*. Ulteriori approfondimenti saranno necessari al fine di valutare l’eventuale similarità tra gli isolati di *K. oxytoca* ambientali ed alimentari.

C19

DETERMINAZIONE DI (POLI)FOSFATI NON DICHIARATI NEI PRODOTTI LATTIERO-CASEARI AI FINI DELLA SICUREZZA ALIMENTARE E CONTRASTO ALLE FRODI

R. Pavlovic¹, M. Nobile¹, F. Di Cesare¹, S. Panseri¹, F. Longo², E. Bonerba³, R. Villa¹, B. Neri², L.M. Chiesa¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Lodi; ²Laboratorio di Chimica degli Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri", Roma; ³Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Valenzano (BA) Italy

I polifosfati sono additivi alimentari appartenenti alla categoria degli addensanti, stabilizzatori di pH ed emulsionanti che sono legalmente impiegati in diversi prodotti alimentari. L'uso intensivo di (poli)fosfati è diventato motivo di preoccupazione a causa dell'impiego fraudolento di questi additivi con conseguente danno commerciale e rischio per la salute dei consumatori. L'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) ha recentemente rivalutato il profilo di sicurezza dei (poli)fosfati, sottolineando che l'assunzione di questi additivi attraverso gli alimenti trasformati deve essere monitorata attentamente. Inoltre, considerate le enormi difficoltà analitiche date dalla determinazione dei (poli)fosfati, l'EFSA ha ritenuto necessario richiedere l'implementazione dei controlli degli alimenti mediante lo sviluppo di metodi analitici più precisi per la rilevazione di questa particolare categoria di sostanze. Questo studio si propone di valutare la fattibilità del superamento dei limiti analitici evidenziati in letteratura mediante l'integrazione della Cromatografia a Scambio Ionico ad Alta Prestazione con Rivelazione Conduttometrica Soppressa e della Spettrometria di Massa ad Alta Risoluzione, Q-Exactive Orbitrap (HPIEC-SCD-HRMS-Orbitrap). Per questa ricerca preliminare sono stati analizzati 24 campioni in rappresentanza di diverse categorie di prodotti lattiero-caseari (latte, formaggio, burro), privi di dichiarazione d'impiego di polifosfati in etichetta. Gli obiettivi della ricerca hanno riguardato: 1) l'accertamento dell'effettiva assenza di polifosfati non dichiarati nei prodotti lattiero-caseari, 2) la possibilità di distinguere l'utilizzo di polifosfati diversi, 3) la possibilità di impostare la caratterizzazione HRMS univoca per la rivelazione di trattamento con esametfosfato di sodio (SHMP o E452) e 4) la possibilità di distinguere il tenore dell'ortofosfato endogeno in relazione all'incremento dei valori di questo composto a seguito dell'idrolisi polifosfati precursori. Tra 17 campioni di latte, sia freschi sia pastorizzati, solo in un campione di latte UHT, la quantificazione di pirofosfato (16,2 µg/g) e i bassi livelli di trimetafosfato (0,57 µg/g) hanno univocamente indicato un trattamento non dichiarato. Quattro campioni di burro non hanno mostrato la presenza di alcuna sostanza polifosfatica, mentre uno dei tre formaggi ha presentato un tenore particolarmente elevato di ortofosfato (2780 µg/g), seguito da una moderata quantità di trifosfato (52,4 µg/g) e un profilo HRMS compatibile con la presenza di diversi polifosfati. L'utilizzo di questa tecnica combinata ha permesso di accertare la presenza dei suoi prodotti di degradazione come i pentaosfati e gli esaosfati, non erano rilevabili con le tecniche precedentemente adottate in letteratura. I risultati ottenuti hanno confermato che la valutazione dell'ortofosfato non può essere esclusa dall'analisi completa per la ricerca dei (poli)fosfati e che l'utilizzo di questo metodo HPIEC-SCD-HRMS-Orbitrap integrato rappresenta la migliore soluzione per rivelare la presenza di (poli)fosfati non dichiarati nei prodotti lattiero-caseari.

C20

EFFICACIA DELL'ACQUA ELETTROLIZZATA ALCALINA NELLA RIDUZIONE DELLA CARICA BATTERICA SU SUPERFICI DESTINATE A VENIRE A CONTATTO CON ALIMENTI

F. Giacometti, F. Tomasello, M. Pollesel, E. Mondo, F. Savini, R. Scarpellini, S. Piva, A. Serraino

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

L'obiettivo del lavoro è stato quello di valutare l'efficacia dell'acqua elettrolizzata alcalina (REW) nel ridurre la carica microbica su superfici di acciaio inox contaminate sperimentalmente, al fine di valutare un suo utilizzo come trattamento igienizzante su superfici a contatto con alimenti. Per ogni prova, sono state usate 4 piastre di acciaio inox (20x20 cm²), precedentemente sterilizzate, su cui è stata delimitata un'area di 100 cm². Le aree sono state contaminate inoculando con un tampone sterile delle sospensioni (10¹¹ UFC/ml) di pool di ceppi batterici di *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Salmonella* spp. e carica batterica mesofila (CBM) ottenuta da carcasse bovine. Ciascuna area, suddivisa in due parti, è stata sottoposta ad inoculo sperimentale: una prima parte è stata campionata per valutare la carica microbica prima del trattamento con REW, mentre sulla seconda parte è stata applicata REW (pH 11,9; ORP -47mV) tramite un nebulizzatore, lasciandola agire sino a completa evaporazione, ed è stata effettuata la valutazione della carica microbica post-trattamento. Tutti i campionamenti sono stati effettuati utilizzando spugnette sterili. Le conte sono state eseguite su Plate Count Agar con identificazione delle colonie tramite metodica MALDI-TOF; i risultati, espressi come UFC/cm², sono stati convertiti in log UFC/cm² per la successiva analisi statistica, eseguita tramite test di Wilcoxon per dati appaiati, considerando come soglia di significatività un p-value <0,01. Di seguito sono riportati i valori (media±deviazione standard) ottenuti dalle conte batteriche relative ai vari microrganismi considerati. Per *S. aureus* una carica pre-trattamento di 4,27 log UFC/cm² (±0,38 SD) e post-trattamento di 3,64 log UFC/cm² (±0,56 SD), per *E. coli* 3,05 log UFC/cm² (±0,56 SD) e 0,69 log UFC/cm² (±1,24 SD), per *L. innocua* 3,97 log UFC/cm² (±1,10 SD) e 1,15 log UFC/cm² (±1,15 SD), per *Salmonella* spp. 4,44 log UFC/cm² (±1,44 SD) e 0,52 log UFC/cm² (±0,89 SD), per la CBM 4,69 log UFC/cm² (±0,61 SD) e 3,74 log UFC/cm² (±0,40 SD). Nel complesso, la carica batterica dei microorganismi patogeni si è ridotta post-trattamento di 2,14 log UFC/cm² (±1,35 SD), con un massimo di 5,54 log UFC/cm² per *Salmonella* spp. e un minimo di 0,32 log UFC/cm² per la CBM. L'analisi statistica svolta ha evidenziato una significativa riduzione (p<0,01) della carica batterica dopo il trattamento con REW. I risultati di questo studio evidenziano l'efficacia della REW come mezzo per ridurre la carica batterica su superfici in acciaio inox, con un'azione significativa anche nei confronti di microrganismi patogeni. Infine, è da sottolineare che, generalmente, i livelli di contaminazione presenti sulle superfici a contatto con gli alimenti sono sensibilmente più bassi rispetto a quelli considerati. È da tenere in considerazione, inoltre, che in questo studio si è valutata esclusivamente l'azione della REW, mentre, in condizioni di normale utilizzo, questa verrebbe impiegata in associazione ad un'azione di rimozione meccanica dei microrganismi, cosa che potrebbe rendere il trattamento ancora più efficace. La REW può quindi essere considerata un'alternativa valida per l'igienizzazione di superfici a contatto con alimenti, considerando inoltre che la sua instabilità dopo l'esposizione all'aria la rende priva di residui.

C21

ARGIRIUM® NANO CLUSTERS DI ARGENTO PER APPLICAZIONI ALIMENTARI

L. Scotti¹, Y.T.R. Proroga², D. Cristiano², F. Capuano², D. Paludi³, A. Aceto¹

¹Department of Medical, Oral and Biotechnological Sciences, G. d'Annunzio University of Chieti-Pescara, Chieti; ²Dipartimento Ispezione alimenti 'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici (NA); ³Faculty of Veterinary Medicine, University of Teramo, Italy

Il cambiamento delle abitudini alimentari ha aumentato la richiesta di prodotti con una shelf life più lunga. Garantire una maggiore vita da banco, rappresenta, per i produttori del settore alimentare un'importante opportunità e per il consumatore la possibilità di ridurre gli sprechi alimentari e economici. C'è la necessità di mettere a punto nuovi sistemi di conservazione degli alimenti tali da garantire ai singoli prodotti un prolungamento del mantenimento delle proprie caratteristiche organolettiche e microbiologiche. Nel nostro studio si propone di utilizzare dei nano clusters di argento (Argirium®) con caratteristiche uniche e prive di stabilizzanti e/o conservanti di natura organica-inorganica. L'attività antibatterica delle nanoparticelle di argento è stata testata sui principali patogeni causa di Malattie Trasmesse da Alimenti ed indicatori di igiene previsti dal Reg. (CE) 2073:2015 e s.m.i.. Tutte le prove sono state condotte utilizzando sia ceppi di campo, isolati da alimenti, che ceppi di riferimento ATCC. Per ogni singola specie batterica (*E. coli* e *Salmonella typhimurium*, *S. aureus* (ATCC 25923); sono state testate concentrazioni di 150 ufc/ml. Le prove sono state condotte ponendo a diretto contatto le colture batteriche con concentrazioni scalari di nanoparticelle a diversi intervalli temporali: di 1 h per 7 h a 37°C per *E. coli* e *Salmonella typhimurium*. Per *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, l'attività antibatterica è stata valutata dopo 6h di contatto con le nanoparticelle. La verifica dell'attività antibatterica è stata effettuata attraverso semina per spatolamento su terreni selettivi: TBX (OXOID) per *E. coli* incubate per 24h a 44°C, *Salmonella chromogenes* (Biolife) per *Salmonella typhimurium* incubate per 24h a 37°C, Baird Parker (OXOID) per *S.aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* incubate a 37°C per 24/48h. Le soluzioni utilizzate di nano clusters hanno forma, dimensioni (<1,5 nm) e caratteristiche chimico fisiche rendono quelle particelle dei bacterial killer efficaci. Le concentrazioni efficaci sono <1 ppm e la soluzione testata ha dimostrato di non avere tossicità a queste concentrazioni su cellule eucariote (HEK) e *Galleria melonella*. L'attività antibatterica delle nanoparticelle è stata testata su ceppi di *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus*. I dati evidenziano una riduzione >al 90% di *S. typhimurium* con concentrazioni di 2,8 ng/mL di Argirium, a 1,4 ng/mL la riduzione della contaminazione batterica si attesta al di sopra del 50% anche dopo 8h di incubazione. A 0,7 ng/mL l'attività antibatterica si riduce al di sotto del 40% dopo 7h di incubazione. L'attività contro ceppi di *E. coli*, evidenzia una inibizione della crescita del 100% dopo 2h di esposizione a concentrazioni di 80 ng/mL dopo 5h la riduzione della crescita batterica si riduce di circa il 50%. Lo *S. aureus*, a 6 h di esposizione a 1,1 ng/mL, presenta una inibizione del 100%. La possibilità di utilizzare nuovi materiali ad alto potere battericida a bassa concentrazione, consente di rendere minimo l'impatto ambientale. Sono state studiate metodiche che possono rimuovere totalmente le nanoparticelle nei fluidi di scarto o nelle acque di trattamento. Il costo di produzione di pochi centesimi rende il prodotto competitivo. I nano clusters possono trovare impiego anche nel trattamento delle acque potabili. Ad oggi un impianto pilota è già attivo per lo scaling-up.

C22

ATMOSPHERIC PRESSURE NON-THERMAL PLASMA: INDAGINE PRELIMINARE

L. Vallone¹, A. Galassi², L. Ferrucci², M. Costanzi²

¹Dipartimento VESPA, Università degli Studi di Milano; ²Plasmi Industriali Srl, Milano, Italy

SCOPO. Verificare l'effetto batteriostatico e/o battericida di plasma freddo, già da tempo impiegato in campo medico e non solo, testandolo *in vitro* su batteri, lieviti e muffe. L'indagine è considerata tuttavia preliminare, in quanto è previsto un secondo step in cui verrà valutata l'efficacia di tecnica e di strumento direttamente su alimenti, sia di origine animale sia di origine vegetale. METODI. Sono stati sottoposti a *Atmospheric pressure non-thermal plasma* (APNTP) un panel di differenti batteri e miceti (ATCC e wild): *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* (batteri); *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium graminearum*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus nigricans* (funghi); *Candida parapsilosis* e *Candida albicans* (lieviti). Il plasma plume è stato generato mediante l'azione di campi elettrici su una miscela gas (ossigeno ed elio) ed è stato erogato per un tempo pari a 5' sui microrganismi elencati, coltivati su differenti matrici: - terreni di coltura, in concentrazione pari a 10⁸; - terreni di coltura, in concentrazione pari a 10⁴; - terreni simil-sintetici, agar manzo e agar pollo, *Listeria innocua* e *Salmonella thiphymurium* (10⁴); - carne in gelatina, *Listeria innocua* e *Salmonella thiphymurium* (10⁴). Le prove sono state effettuate in triplicato. RISULTATI. I risultati ottenuti sui batteri sottoposti al plasma atmosferico sono stati evidenti su tutti i ceppi testati ad eccezione di *Proteus mirabilis* (10⁸), più manifesti alla concentrazione di 10⁴. Gli effetti sono degni di nota non solo sui batteri inoculati sui terreni di coltura ma anche sui terreni semi-sintetici e sulla carne in gelatina (10⁴). I miceti (funghi e lieviti) non hanno manifestato alcun cambiamento/modifica comportamentale in seguito al trattamento con plasma plume, che non ha evidenziato, dunque, né un'attività fungicida né fungistatica. CONCLUSIONI. I risultati ottenuti sul pool di microrganismi testati hanno dimostrato l'efficacia battericida di questa tecnologia. La crescita dei microrganismi in concentrazione pari a 10⁴, che riteniamo essere più rispondente alle contaminazioni che possono essere presenti negli alimenti del commercio (rispetto a 10⁸), è stata arrestata dal plasma.

C23

GESTIONE INFORMATIZZATA DELLA SICUREZZA ALIMENTARE: VALUTAZIONE ED APPLICABILITÀ IN UNA MICROIMPRESA

M. Sartoni¹, C. Polese¹, L. Cianti², A. Guidi¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa; ²Az. USL Toscana Centro, Area Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Italy

Sebbene l'applicazione di un sistema di autocontrollo aziendale basato su HACCP sia una metodica prevista oramai da alcuni decenni, la presenza di un piano efficace, attuabile e rispondente alle peculiarità aziendali, risulta ancora scarsa in taluni contesti aziendali e tra questi nelle microimprese. Ciò è stato evidenziato dal report FVO (DG(SANTE) 2015-7752 - MR) "Final overview report on the state of implementation of haccp in the EU and areas for improvement", che

descrive uno scenario disomogeneo per quanto riguarda conoscenza ed applicazione dello standard, nonché un diffuso senso di “passività” verso l’autocontrollo, percepito spesso come un onere, soprattutto nelle realtà meno strutturate. La Comunicazione della Commissione Europea (2016/C 278/01) ha ribadito l’importanza di agevolazione e flessibilità per l’applicazione dello standard in determinate imprese alimentari. Risulterebbe infatti utile, disporre di un approccio più flessibile e allo stesso tempo efficace e di facile utilizzo, anche per aziende meno strutturate, per guidare queste nell’applicazione delle GHP e GMP, nell’individuazione delle criticità legate ai processi e nella costruzione delle procedure di controllo. Scopo del presente lavoro è stato l’applicazione in una microimpresa di una piattaforma informatica con impostazione modulare, adattabile alle specificità aziendali al fine di superare le debolezze associate alla scarsa customizzazione ed aderenza dei sistemi di gestione della sicurezza alimentare. Lo studio è stato condotto tramite l’applicazione di un software, Safety Content Management (SCM), come strumento innovativo e migliorativo in grado coprire il sistema dei prerequisiti (PRP) e il sistema HACCP per la gestione dell’autocontrollo aziendale, presso una microimpresa a conduzione familiare dedicata alla ristorazione e produzione di pasta fresca. L’implementazione del sistema, condotta durante la fase pandemica, ha previsto alcuni sopralluoghi in sito, la disamina dell’apparato documentale preesistente ed il ribaltamento, condotto quasi esclusivamente da remoto, del sistema di autocontrollo aziendale tramite il software e la App associata. Sono stati implementati digitalmente i sistemi dei prerequisiti, dell’HACCP e della tracciabilità interna. Il sistema di autocontrollo informatizzato è apparso snellito e rafforzato attenuando per l’impresa le difficoltà di gestione attribuite, in precedenza, a ridondanza documentale ed alla scarsità di risorse dedicate. Ulteriori benefici sono stati osservati dal titolare e dagli addetti, nella performance dei compiti giornalieri, e dal consulente aziendale per quanto concerne l’accessibilità da remoto ed in real time ai dati aziendali. Inoltre, la possibilità di erogare all’impresa formazione ed assistenza sull’uso del sistema da remoto, ha permesso il regolare avanzamento dell’applicazione del sistema nonostante la fase pandemica. La digitalizzazione rappresenta oggi uno strumento importato ed in linea con le politiche e gli incentivi allo sviluppo di “Industria 4.0”, per la creazione dei piani di sicurezza alimentare, oltre ad avere acquisito accezione di ausilio necessario in seguito all’avvento della pandemia COVID-19. Lo strumento digitale accelera, armonizza e snellisce la gestione dei processi legati alla sicurezza alimentare anche nelle realtà di piccole e micro dimensioni fungendo da facilitatore per l’applicazione degli elementi di gestione dell’autocontrollo e superando in parte la resistenza ancora in essere nella costruzione e gestione di un apparato di autocontrollo aziendale. Infine, la possibilità di accedere e gestire in modo “smart” i dati aziendali all’interno di un sistema definito di utilizzatori, favorisce la partecipazione e la trasparenza aziendale lungo la filiera, rafforzando il sistema della sicurezza alimentare a beneficio della tutela dei consumatori e migliorando la qualità del lavoro dell’impresa.

C24

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA E ANTIBIOFILM DI OLIO ESSENZIALE DI MANUKA NEI CONFRONTI DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* E *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DI ORIGINE ALIMENTARE

F. Pedonese¹, E. Longo¹, B. Torracca¹, B. Najjar², F. Fratini¹, R. Nuvoloni¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa; ²Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Italy

La presenza di biofilm microbici nell’industria alimentare richiede strategie diversificate ai fini del loro controllo ed un’attenzione particolare verso soluzioni “green”, che utilizzino composti naturali, come gli oli essenziali, in alternativa agli agenti chimici o in combinazione con essi. Per quanto riguarda in particolare l’olio essenziale di manuka (*Leptospermum scoparium* J.R. Forst & G. Forst), mentre esistono studi riguardo all’azione antimicrobica, i dati riguardo all’attività sui biofilm microbici sono scarsi ed incentrati su microrganismi non di origine alimentare. È stata quindi studiata l’azione dell’olio essenziale di manuka nei confronti di biofilm di ceppi di origine alimentare di *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. Sono stati presi in esame 7 ceppi di *Listeria monocytogenes* e 7 ceppi di *Staphylococcus aureus*, di cui 5 meticillino-resistenti. È stata effettuata la quantificazione in micropiastre da 96 pozzetti della produzione di biofilm dei vari ceppi (determinazione della biomassa con metodo al cristallio violetto a 72 ore) in Tryptone Soya Broth addizionato dell’1,5% di cloruro di sodio e dello 0,75% di glucosio per favorirne la formazione. Sono inoltre state determinate, sempre in micrometodo, la Minima Concentrazione Inibente (MIC), la Minima Concentrazione Battericida (MBC), e, su 3 ceppi di *S. aureus* (1 ATCC e 2 meticillino-resistenti) e 2 di *L. monocytogenes*, risultati i migliori produttori di biofilm tra quelli testati per ognuna delle specie, la Minima Concentrazione Inibente il Biofilm (MBIC) e la Minima Concentrazione Eradicante il Biofilm (MBEC). La composizione chimica dell’olio essenziale di manuka è stata studiata tramite gas cromatografia/spettrometria di massa (GC/MS). Leptosperone, iso-leptosperone e flavesone costituivano insieme il 32,5% dell’intero olio essenziale. Tra i sesquiterpeni idrocarburi è risultato prevalente il *cis*-calamenene (24%). Per *L. monocytogenes* sono stati ottenuti valori di MIC di 0,466 mg/ml e MBC di 0,933 mg/ml; per *S. aureus*, valori di MIC di 0,233 mg/ml e di MBC di 0,466 mg/ml. Per la determinazione della MBIC e della MBEC, i risultati per *L. monocytogenes* sono stati i seguenti: MBIC pari a 0,933 mg/ml e MBEC nel range 0,933-1,865 mg/ml, mentre per *S. aureus* l’MBIC era nel range 7,461-14,922 mg/ml e l’MBEC pari a 14,922 mg/ml. L’olio essenziale di manuka ha esibito una buona attività antimicrobica nei confronti di entrambe le specie batteriche, come mostrato dai valori di MIC e MBC. I valori di MBIC e MBEC per *L. monocytogenes* sono risultati uguali o di poco superiori all’MBC, mentre per *S. aureus* sono risultate necessarie concentrazioni di olio essenziale più elevate per ottenere un’azione sulle cellule batteriche presenti nel biofilm. Ciò è da mettere probabilmente in relazione con la diversa struttura del biofilm. Nel complesso i risultati forniscono indicazioni per un possibile utilizzo dell’olio essenziale nell’ambito dei sistemi produttivi alimentari.

C25

PROBLEMATICHE IGIENICO-SANITARIE E COMMERCIALI IN FUNGHI FRESCHI, SPONTANEI E COLTIVATI, E IN PRODOTTI A BASE DI FUNGHI

A. Giusti¹, L. Tinacci¹, F. Verdigi², R. Narducci³, L. Gasperetti⁴, A. Armani¹

¹FishLab, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa; ²ASL Toscana Nord Ovest, Dipartimento della prevenzione, Ispettorato Micologico, Pisa; ³A.G.M.T. Associazione Gruppi Micologici Toscani, Santa Croce sull’Arno (PI); ⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana “M. Aleandri”, Pisa, Italy

Nel presente studio sono stati analizzati gli aspetti igienico-sanitari e commerciali relativi alla vendita al consumo presso la grande distri-

Giovedì 23 settembre 2021

Sessione PESCE e TEMI VARI

buzione organizzata (GDO) di funghi freschi, spontanei e coltivati, e prodotti a base di funghi, attraverso: 1) l'analisi dei risultati dei controlli ufficiali; 2) la valutazione dell'etichettatura. Per quanto riguarda il punto 1, i dati si riferiscono ai risultati delle attività di controllo ufficiale svolte dall'azienda ASL Toscana Nord Ovest -Dipartimento della prevenzione - gruppo Micologico, nel periodo 2016-2020. Durante i controlli sono stati verificati gli item aziendali e le disposizioni del LR. n. 16/99 (articoli 20 e 21) in merito all'autorizzazione al commercio e alla somministrazione dei funghi epigei spontanei, nonché lo stato di conservazione e la detenzione da parte dell'OSA di attestati per la vendita di funghi sfusi. Per l'analisi di cui al punto 2 è stata valutata la conformità delle etichette di 98 prodotti acquistati presso la GDO alla normativa europea in materia di etichettatura dei prodotti alimentari e alla normativa nazionale concernente la commercializzazione dei funghi epigei freschi e conservati. In particolare, attraverso la valutazione della presenza delle informazioni di cui all'articolo 37 del Reg. UE n. 1169/2011 integrate con le informazioni specifiche per questa tipologia di prodotti di cui all'articolo 10 del DPR 14 luglio 1995, n. 376. I risultati dei sopralluoghi delle attività di controllo ufficiale hanno evidenziato non conformità relative alle modalità di conservazione di prodotti di IV gamma (per lo più funghi coltivati, sottoposti a trattamenti di minima entità e confezionati). In particolare, le non conformità erano riferibili ad una non corretta conservazione che, ai sensi Decreto del Ministero dello sviluppo Economico n. 3746 del 20/06/2014 (articolo 6), dovrebbe avvenire ad una temperatura uniforme inferiore a 8°C, dal confezionamento all'acquisto. Durante i sopralluoghi sono state inoltre riportate osservazioni in merito alla conservazione di funghi spontanei a temperatura ambiente con decadimento organolettico del prodotto stesso. L'analisi delle etichette dei prodotti acquistati ha evidenziato una sostanziale conformità ai requisiti imposti dalle normative di riferimento. Ciò nonostante, sono state osservate criticità relative all'indicazione delle condizioni d'uso e relativi tempi di cottura suggeriti dagli OSA che sembrerebbero non garantire l'inattivazione di tossine termolabili presenti anche in funghi dichiarati edibili. Infatti, se per alcune specie come *Agaricus bisporus* si consiglia un trattamento a 70°C per almeno 10 minuti, per altre specie potrebbe essere necessario raggiungere i 100°C. Questo in funzione della differenti tossine presenti nei funghi. Alla luce delle criticità emerse si rende necessario redigere una proposta di integrazione e revisione della normativa vigente in materia di gestione della catena del freddo e informazioni al consumatore per la conservazione e utilizzo dei funghi e prodotti a base di funghi. Questa revisione è necessaria anche in virtù dei dati di intossicazione da funghi a livello nazionale. Infatti, oltre ai casi dovuti al consumo di specie fungine tossiche, sono documentati episodi occasionali descritti come falsi micetismi, dovuti all'ingestione di funghi edibili conservati e/o utilizzati non correttamente.

C26

LEGISLAZIONE DELL'UNIONE EUROPEA E MOLLUSCHI BIVALVI VIVI: IL CRITERIO DI SICUREZZA PER *ESCHERICHIA COLI* È COERENTE E COORDINATO CON I CRITERI DI CLASSIFICAZIONE DELLE AREE DI PRODUZIONE?

C. Ciccarelli¹, M. Leinoudi², A.M. Semeraro¹, V. Di Trani¹, E. Ciccarelli³, G. Consorti⁴

¹ASUR Marche, Area Vasta 5, San Benedetto del Tronto, Italy; ²General Chemical State Laboratory, Salonicco (GR), Italy; ³Biologo, Reading, UK; ⁴Veterinario, San Benedetto del Tronto, Italy

SCOPO. L'Unione Europea ha fissato i criteri per la classificazione in tre livelli sanitari delle zone di produzione dei molluschi bivalvi, in base ai risultati del monitoraggio di *E. coli* nei molluschi; inoltre, nel Reg. (UE) 2015/2285 ha ridefinito il criterio microbiologico di sicurezza per *E. coli*, basato su un campionamento a tre classi su 5 unità campionarie per i molluschi bivalvi vivi (MBV) commercializzati per il consumo umano diretto. Entrambi i criteri prevedono l'uso del metodo MPN (EN ISO 16643-3:2005) che è basato su un approccio statistico che presenta numerosi fattori che contribuiscono alla sua variabilità. Oltre all'incertezza del metodo, comune a tutti i test microbiologici, un aspetto rilevante è la variabilità da campione a campione, poiché l'esame viene eseguito su un pool di MBV in cui ogni esemplare può contenere un numero differente di batteri. Infatti, la distribuzione di *E. coli* nell'ambiente acquatico non appare uniforme nella colonna d'acqua e nel tempo, dipendendo da fattori legati alla fonte di contaminazione, alla resistenza del microorganismo, a fattori oceanografici che ne influenzano la distribuzione ed alla cinetica di bio-accumulo nei bivalvi. Ne deriva che il risultato ottenuto da un singolo campionamento può rappresentare una stima non accurata del livello di contaminazione, mentre risultati relativi al lungo periodo possono fornire indicazioni più precise. In maniera analoga, il campionamento a tre classi su cui è basato il criterio di sicurezza per *E. coli* può risentire di questa variabilità. Questo studio, basato su metodi probabilistici, intende esaminare il grado di coerenza tra i criteri di classificazione delle aree di produzione ed il criterio di sicurezza per *E. coli* nei MBV, come stabiliti dall'UE, e valutare la probabilità che la metodica indicata per la verifica di tale criterio possa riflettere correttamente lo status sanitario delle rispettive aree di raccolta. METODI. Lo studio è stato articolato in tre fasi: la formulazione di un ampio ventaglio di ipotesi di livelli di contaminazione delle zone di produzione e di efficienza dei trattamenti post-raccolta; per ciascuno degli scenari ipotizzati, la simulazione degli esiti del processo di classificazione delle aree di produzione e della verifica del criterio di sicurezza per *E. coli*; infine, mediante il Teorema di Bayes, la determinazione della probabilità che i risultati della verifica del criterio di sicurezza riflettano lo status sanitario delle aree di provenienza dei MBV. RISULTATI. I risultati ottenuti mostrano che, per i MBV posti regolarmente in commercio, la probabilità di risultati Non Conformi al criterio di sicurezza indicato non appare trascurabile ed oscilla tra 10% e 50% nei diversi scenari ipotizzati, con una probabilità di falsi Non Conformi

>10%. L'applicazione del teorema di Bayes mostra, per i bivalvi non conformi, che la probabilità di provenire da aree classificate A o B dopo un trattamento di depurazione, nelle ipotesi migliori si mantiene a livelli elevati, anche >80%. **CONCLUSIONI.** Questo studio, basato su un metodo probabilistico ed utilizzando il teorema di Bayes, ha mostrato come, nei limiti delle ipotesi di lavoro assunte, il criterio di sicurezza per *E. coli* non appaia coerente e coordinato con i criteri di classificazione adottati nell'Unione Europea e non sia in grado di riflettere correttamente lo status sanitario delle zone di provenienza dei molluschi bivalvi testati.

C27

DETERMINAZIONE DELLA PRESENZA DI METALLI PESANTI IN MITILI PROVENIENTI DA UN ALLEVAMENTO PILOTA DELLA LAGUNA DI CALICH (SARDEGNA)

D. Meloni¹, A.G. Mudadu², M.C. Abete³, A.M. Bazzoni⁴, A. Griglione³, S. Pederiva³, S. Serra⁵, N. Fois⁵, G. Esposito⁶, S. Squadrone³

¹Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Sassari; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Sassari; ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino; ⁴ARPAS-Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente della Regione Sardegna, Sassari; ⁵AGRIS Sardegna, Agenzia per la Ricerca in Agricoltura, Loc. Bonassai (SS); ⁶Acquario di Cala Gonone, Cala Gonone (NU), Italy

Le lagune e gli stagni costieri della Sardegna sono riconosciuti a livello nazionale e comunitario come ambienti umidi di elevato pregio naturalistico, rappresentando ecosistemi ad elevata biodiversità. Molti di questi ambienti, a causa della difficoltà di conciliare diverse esigenze di natura economica, soffrono sulle loro sponde di una forte presenza di attività umane (cantieri/usi civici/attività turistiche) che possono determinare conflitti con la destinazione d'uso rivolta alla produzione primaria ed alla conservazione ambientale. Delle numerose zone umide presenti nell'isola, circa 30 sono rilevanti dal punto di vista della produzione ittica. La loro gestione è solitamente affidata a cooperative o consorzi di pescatori che esercitano le attività di pesca perlopiù con tecniche tradizionali. Tra gli ecosistemi ad elevato valore naturalistico della Sardegna, la Laguna di Calich situata nel nord ovest della Sardegna, è uno dei principali. Attualmente non è una zona classificata per la produzione dei molluschi bivalvi, e per quelli presenti in banchi naturali (vongole veraci, mitili, ostriche e cuori eduli) vige il divieto di raccolta e commercializzazione. Lo scopo del presente studio è stato la determinazione della presenza di 25 metalli pesanti in mitili (*Mytilus galloprovincialis*) raccolti nell'ambito di un allevamento pilota realizzato nella Laguna di Calich. A tal fine, sono state programmate due sessioni di campionamento durante l'inverno e la primavera del 2019. L'analisi diretta del Mercurio è stata effettuata mediante Spettrofotometria in Assorbimento Atomico (AAS), mentre la determinazione degli altri 24 elementi traccia (Argento, Alluminio, Arsenico, Berillio, Bismuto, Cadmio, Cobalto, Cromo, Rame, Ferro, Gallio, Indio, Magnesio, Manganese, Molibdeno, Nichel, Piombo, Rubidio, Selenio, Stagno, Titanio, Uranio, Vanadio, Zinco) è stata eseguita mediante Spettrometria di Massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS). Contestualmente, al fine di correlare la presenza dei metalli pesanti nei mitili nelle condizioni ambientali delle acque di allevamento, sono stati rilevati i parametri fisico-chimici dell'acqua (temperatura, salinità, pH, ossigeno disciolto e clorofilla) mediante sonda multi-parametrica. I livelli più elevati sono stati riscontrati

per Magnesio (media 1094 mg kg⁻¹), Alluminio (media 218 mg kg⁻¹) e Ferro (media 154 mg kg⁻¹). I valori di Cadmio, Piombo e Mercurio erano ampiamente al di sotto dei limiti fissati dalla Normativa Comunitaria. L'ecologia attuale della Laguna di Calich suggerisce che, compatibilmente con l'ecosistema lagunare, dalla sua classificazione come zona di produzione e dall'implementazione della molluschicoltura di tipo estensivo (per esempio mediante "semina" di specie pregiate come ostriche, mitili, vongole veraci), potrebbe derivare un modello di sfruttamento che ne migliora le capacità produttive. I risultati hanno confermato l'efficacia dei mitili come bioindicatori della presenza di inquinanti metallici nei sistemi lagunari. La conoscenza e la comprensione dei processi ecologici sono uno strumento indispensabile per favorire l'uso sostenibile della Laguna di Calich, valutare eventuali cambiamenti in atto, conservarne la biodiversità e mitigare gli effetti di alterazioni negative indotte dalle attività antropiche.

C28

EFFETTO DEI DIVERSI TRATTAMENTI DI COTTURA SUL LIVELLO RESIDUO DI SOLFITI NEI CROSTACEI

M. Iammarino, G. Berardi, A. Di Taranto, V. Vita, C. Marseglia

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

I solfiti (E220-E228) sono una classe di additivi alimentari autorizzati in Europa anche per il trattamento dei crostacei, con una serie di restrizioni definite nel Regolamento (CE) No. 1333/2008. L'ingestione di elevate quantità di solfiti è stata associata ad effetti citotossici e mutagenici, oltre che a fenomeni di intolleranza ed asma in soggetti sensibili. È importante, inoltre, sottolineare l'effetto negativo che i solfiti possono causare sulle caratteristiche nutrizionali del prodotto (denaturazione di tiamina, acido folico, nicotinamide e piridossale). Tuttavia, la quantità di additivo effettivamente ingerita con la dieta può risentire della specifica tecnica di cottura impiegata. In questo studio, è stato valutato l'effetto di 5 classiche procedure di preparazione domestica (griglia, forno, frittura, vapore e pentola) sul livello finale di solfiti in campioni di scampi. 3 kg di scampi di media pezzatura sono stati suddivisi in modo tale da ottenere aliquote da 200 g ed effettuare n. 5 determinazioni sul prodotto tal quale (in modo da determinare la concentrazione iniziale e confermare l'omogeneità dell'analita nel campione) e n. 2 determinazioni a seguito di ogni trattamento di cottura, simulando la preparazione domestica e aggiungendo, ove necessario, altri ingredienti quali olio di oliva, aglio, spezie, pomodori pelati, ecc., ed attendendo l'idonea cottura del prodotto per il consumo. Le analisi sono state effettuate mediante metodica validata ed accreditata in cromatografia ionica. La concentrazione media di solfiti nel campione di partenza (espressa come SO₂) è risultata pari a 121,9 mg/kg. Tenuto conto della deviazione standard ottenuta sulle 5 ripetizioni effettuate (1,5 mg/kg) è stato possibile confermare che la distribuzione dell'additivo sul campione era omogenea, consentendo l'esecuzione delle prove di cottura. Per quanto riguarda l'effetto della cottura sul residuo di solfiti nel campione, è possibile affermare che, sebbene tutti i campioni cotti abbiano fatto registrare una concentrazione di solfiti inferiore a quella del prodotto di partenza, tale effetto è estremamente variabile in funzione della specifica tecnica impiegata. In particolare, la massima riduzione di additivo (44,0%) è stata verificata cuocendo il campione a vapore, mentre la riduzione minima (13,9%) è stata verificata cuocendo il campione in forno. Le riduzioni di additivo registrate cuocendo nelle altre modalità testate sono risultate confrontabili, variabili tra il

22,1% per il prodotto sottoposto a frittura ed il 33,7% per la cottura alla griglia. Lo studio ha consentito di confermare che gli effettivi "intake" di additivi alimentari al momento del consumo possono essere significativamente influenzati dalla specifica tecnica di cottura impiegata, come nel caso dei solfiti nei crostacei. La cottura causa una generale diminuzione dei solfiti nel prodotto, tuttavia questa diminuzione è estremamente variabile in base alla specifica tecnica di cottura impiegata. Più in particolare, la cottura a vapore causa la maggiore diminuzione dei solfiti nel campione (44,0%), mentre la diminuzione meno significativa si registra cuocendo il campione in forno (13,9%) (Figura 1). Il presente studio conferma, dunque, la necessità di simulare i trattamenti di cottura prima dell'analisi nei cosiddetti "risk assessment" e "total diet studies", al fine di ottenere dati veritieri relativi alle quantità di additivo assunte con la dieta dalla popolazione italiana.

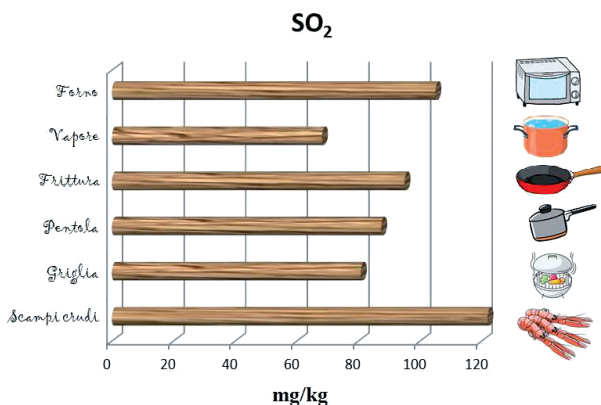


Figura 1. Variazione del contenuto di solfiti in campioni di scampi cotti secondo 5 modalità differenti.

C29

RICERCA DI PARAMETRI MICROBIOLOGICI, BIOTOSSINE ALGALI E MICROPLASTICHE IN MITILI E DI FITOPLANCTON IN CAMPIONI DI ACQUA PROVENIENTI DA UN ALLEVAMENTO PILOTA DELLA LAGUNA DI CALICH (SARDEGNA)

A.G. Mudadu¹, A.M. Bazzoni², R. Melillo¹, G. Lorenzoni¹, S. Cau¹, B. Soro¹, S. Salza¹, G. Piras¹, B. Vodret¹, T. Tedde¹, S. Serra³, N. Fois³, S. Virgilio¹, D. Meloni⁴

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Struttura Complessa di Microbiologia e Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Sassari; ²Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente della Sardegna, Sassari; ³Agris Sardegna, Agenzia per la ricerca in agricoltura, Centro di ricerca di Bonassai, Olmedo (SS); ⁴Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italy

Le lagune costiere sono ecosistemi caratterizzati da una elevata produttività, dovuta principalmente agli apporti di nutrienti provenienti sia dal mare che dai terreni circostanti e ciò spiega in buona parte l'interesse economico per lo sfruttamento commerciale delle loro risorse biologiche. La Laguna di Calich, situata nella costa nord-occidentale della Sardegna (Alghero, SS), riveste per la Regione una grande importanza ambientale ed economica. In questo lavoro sono riportati i risultati relativi alla ricerca di parametri microbiologici (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Vibrio* spp.), biotossine algali (Paralytic Shellfish Poisoning (PSP), Tossine Lipofiliche (LTs), Amnesic Shellfish Poisoning (ASP)), microplastiche nei mitili, e i dati riguardanti la comunità fitoplanctonica presente nell'acqua, ottenuti

nel periodo Febbraio-Maggio 2019 nella Laguna di Calich. Lo scopo della ricerca è stato quello di raccogliere ed analizzare dati preliminari volti all'approfondimento delle conoscenze dell'ambiente lagunare nell'ambito della realizzazione di una stazione sperimentale di allevamento di molluschi bivalvi. Sono stati analizzati un totale di 4 campioni d'acqua da un litro ciascuno per la determinazione del fitoplancton e due campioni di mitili provenienti un pool di 9 reste per la determinazione dei parametri microbiologici, biotossine algali e microplastiche. I mitili utilizzati per la sperimentazione sono stati messi a dimora nel mese di Dicembre 2018 e campionati nel mese di Febbraio e Maggio 2019, una volta raggiunta la taglia commerciale. La determinazione di *Salmonella* spp. è stata eseguita secondo la metodica ISO 6579-1:2017; per la ricerca di *Vibrio* spp. è stata utilizzata la ISO/TS 21872-1-2:2017; per la conta di *E. coli* la ISO 16649-3:2015. La determinazione delle PSP è stata effettuata secondo la metodica AOAC International 959.08, le LTs in accordo con il Regolamento (EC) 15/2011 e per le ASP in accordo con la procedura operativa standard AESAN, 2008. Per la determinazione delle microplastiche si è utilizzato un protocollo sperimentale interno basato sulla degradazione della materia organica con KOH. Per l'identificazione e la quantificazione del fitoplancton è stata seguita la metodica di Utermöhl. Durante il prelievo dei campioni di acqua ne sono stati rilevati i parametri fisico-chimici mediante sonda multiparametrica. Nei campioni analizzati, *Vibrio* spp. e *Salmonella* spp. sono risultati assenti. *E. coli* è risultato presente a Febbraio con un valore di 17750 MPN/100 g e a Maggio con 1300 MPN/100 g. Nei campioni analizzati non sono state riscontrate biotossine algali e microalghe potenzialmente capaci di produrle. Nel periodo considerato le specie algali con le maggiori abbondanze appartenevano alla classe Bacillariophyceae, con un picco di 61 x 10⁶ cell/L nel mese di Marzo. Organismi di dimensioni minori di 5µm, di difficile classificazione, riportati come Ultraplankton, sono stati riscontrati con abbondanze molto elevate con un picco nel mese di Maggio (95 x 10⁶ cell/L). Per quanto riguarda le microplastiche, sono stati riscontrati principalmente filamenti che sono stati classificati in base a colore, forma e dimensione. In conclusione i valori di *E. coli* e l'assenza di *Salmonella* spp. sarebbero compatibili con una classificazione della laguna come "Classe B", secondo la normativa comunitaria cogente. Ulteriori studi sono necessari per ampliare le conoscenze sulle potenzialità produttive della Laguna.

C30

CONTAMINAZIONE DA MICROPLASTICHE FIBROSE IN MITILI (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*) E ALICI (*ENGRAULIS ENCRASICOLOUS*) PROVENIENTI DAL MAR TIRRENO

S. Santonicola¹, M. Volgare², E. Di Pace², M. Cocca², R. Mercogliano³, G. Colavita¹

¹Department of Medicine and Health Sciences "V. Tiberio", University of Molise, Campobasso; ²Institute of Polymer, Composites and Biomaterials, National Research Council of Italy, Pozzuoli (NA); ³Department of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples, Napoli, Italy

La presenza di microplastiche (<5mm) nell'ambiente, oltre che per il loro impatto ecologico, desta non poche preoccupazioni in materia di sicurezza alimentare. Le microplastiche fibrose, insieme alle fibre non sintetiche, risultano tra le particelle antropiche più diffuse nei mari. Tuttavia, le informazioni sui livelli di contaminazione da microfibre nei molluschi bivalvi e nelle specie ittiche di interesse commerciale risultano ancora limitate. Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare

l'entità della contaminazione da microfibre in mitili (*Mytilus galloprovincialis*) e alici (*Engraulis encrasicolus*) provenienti dal mar Tirreno (Zona Fao 37, Divisione 37.1.3). N.15 esemplari di mitili e 15 esemplari di alici sono stati sottoposti alla ricerca di microplastiche fibrose. L'intero corpo dei mitili e il tratto gastrointestinale delle alici sono stati sottoposti a digestione chimica alcalina, separazione densitometrica con soluzione salina e filtrazione su membrane a porosità ridotta. I filtri sono stati esaminati utilizzando un microscopio ottico LEICA M205C ad un ingrandimento di 0,78-16x. In base alle caratteristiche morfologiche, le fibre repertate sono state distinte in naturali e sintetiche, enumerate e classificate in base al colore. L'esame dei bianchi ha consentito di escludere le microfibre dovute ad una contaminazione ambientale. Sulla base del numero medio di microfibre rilevate nei campioni esaminati è stata effettuata una stima dell'esposizione umana riferita al consumo di una porzione di mitili o di alici. L'analisi delle micrografie acquisite ha permesso di rilevare nel 73% dei campioni la presenza di microfibre, di cui il 54% classificate come sintetiche. Nei mitili è stata riscontrata una media di 7,66 microfibre/campione (1,33 microfibre/g), mentre nelle alici sono state rilevate mediamente 9,06 microfibre/campione. Anche se il numero degli esemplari non ha consentito valutazioni definitive, si è potuto osservare un numero di fibre più contenuto (0,78 microfibre/g) nei mitili di maggiori dimensioni (6-14 g) rispetto a quello rilevato (1,69 microfibre/g) negli esemplari più piccoli (4-5,75g). Le fibre scure (blu e nero) e incolore sono risultate le più numerose sia nei mitili che nelle alici. Un primo approccio alla valutazione dell'esposizione del consumatore ha consentito di stimare una possibile ingestione di 332,5 e 135,5 microfibre per porzione di mitili e alici, rispettivamente. Le microfibre rappresentano le microplastiche più frequentemente rinvenute nei pesci e nei molluschi bivalvi. I mitili, in quanto filtratori, sono particolarmente esposti all'ingestione di microfibre, che per la specifica morfologia possono accumularsi non solo nell'epatopancreas, ma anche in altri tessuti come branchie e mantello. Negli esemplari di maggiori dimensioni con un tasso di filtrazione più basso, l'ingestione delle microfibre risulta invece più contenuta. Le alici possono assumere le microfibre, più frequentemente quelle scure, attraverso la filtrazione e ingerire quelle incolore con la predazione in quanto hanno un aspetto simile allo zooplancton. I mitili e le alici sono prodotti sovente consumati non eviscerati e per questo il consumatore può essere esposto all'ingestione di microfibre. Per meglio stimare la contaminazione di pesci e molluschi e l'esposizione del consumatore, sono necessari ulteriori approfondimenti per quantificare e caratterizzare le microplastiche fibrose nelle specie di interesse commerciale.

C31

FLUTTUAZIONI DELLA TEMPERATURA LUNGO LA FILIERA DISTRIBUTIVA ALIMENTARE E COMPORTAMENTO DI *LISTERIA MONOCYTOGENES*: VALUTAZIONI *IN VITRO* E SIMULAZIONI MEDIANTE APPROCCIO DINAMICO E STOCASTICO

A. Giuffrida^{1,2}, F. Giarratana^{1,2}, L. Nalbone^{1,2}, G. Ziino^{1,2}, G. Donato², S.M. Marotta², F. Lamberta²

¹Department of Veterinary Sciences, University of Messina, Polo Universitario dell'Annunziata, Messina; ²RICONNEXIA SRLS, Spin-off of the University of Messina, Polo Universitario dell'Annunziata, Messina, Italy

Scopo del presente lavoro è la valutazione del comportamento di *Listeria monocytogenes* in rapporto ad un regime termico fluttuante. In secondo luogo, si è voluto saggiare l'efficacia di strumenti predittivi deterministici e stocastici per la previsione del comportamento di *L.*

monocytogenes in riferimento all'andamento della T, osservato in diverse condizioni di distribuzione e stoccaggio domestico. A tal fine, sono state condotte due sperimentazioni. Nella prima, due colture di un ceppo di *L. monocytogenes*, sono state mantenute a due diversi regimi di fluttuazioni della temperatura (da 2±1°C a 8±1°C) con periodi di fluttuazione, rispettivamente, di 12 (Tr12) e 24 (Tr24) ore (incubazione totale di 204 e 167 ore, rispettivamente). Le colture sono state regolarmente campionate per la conta di *L. monocytogenes*. Le curve di crescita ottenute sono state riprodotte tramite un modello predittivo dinamico che teneva conto, punto per punto, delle variazioni della temperatura registrate. Il modello è stato utilizzato per ulteriori previsioni considerando la temperatura media (Tm), la temperatura cinetica media (Tcm), il 75^{esimo} e 95^{esimo} percentile della temperatura. Una risoluzione stocastica del modello, mediante 1000 iterazioni, è stata effettuata utilizzando il valore medio di Temperatura e la deviazione standard come variabile. Ogni valutazione predittiva è stata confrontata con i valori osservati mediante il calcolo dell'errore medio quadratico. Per quanto riguarda la seconda sperimentazione, è stata monitorata la temperatura di 8 mezzi di trasporto refrigerati, 10 espositori frigo e 15 frigoriferi domestici, riproducendo una curva di Temperatura media di 21 giorni. Questa è stata impiegata per l'ottenimento di scenari predittivi di *L. monocytogenes* come nella Sperimentazione 1 unitamente a quelli suggeriti dalla Linea Guida EURL - Anses del 2019. Le previsioni del modello dinamico venivano utilizzate come curva "controllo". Relativamente alla prima sperimentazione, il modello dinamico ha riprodotto in maniera più precisa i dati osservati per entrambi i regimi di T. Il valore di Tcm consentiva una predizione migliore rispetto a Tm per Tr12, mentre al contrario si osservava per il Tr24. Le predizioni ottenute con il 75^{esimo} e 95^{esimo} percentile sovrastimavano i dati di crescita osservati. Il modello stocastico ha fatto registrare ottime performance predittive, molto vicine a quelle ottenute dinamicamente. Per quanto attiene alla seconda sperimentazione, le predizioni ottenute con Tm e Tcm risultavano in buon accordo con la curva "controllo" mentre le simulazioni effettuate con il 75^{esimo} e 95^{esimo} percentile o secondo l'approccio della "Eurl LM", producevano una sovrastima della crescita del microrganismo. Infine, ancora una volta, la risoluzione stocastica del modello restituiva la migliore riproduzione dei dati "controllo". I risultati ottenuti dimostrano l'utilità dei modelli predittivi dinamici per la stima delle relazioni tra fluttuazione termica e crescita dei microrganismi. I modelli stocastici di microbiologia predittiva appaiono, inoltre, molto performanti per simulare situazioni di grande variabilità delle condizioni ambientali, dimostrando, peraltro, una elevata correlazione tra la dinamica di popolazione microbica e il valore medio o cinetico medio della Temperatura. Di contro, l'approccio basato sul 75^{esimo} e 95^{esimo} percentile così come quello di cui Linee Guida Eurl LM - Anses, appare eccessivamente sovrastimante.

C32

AUDIT IN GRANDE DISTRIBUZIONE ORGANIZZATA AI TEMPI DEL COVID-19: ESPERIENZE DI CONTROLLO DI SISTEMA CON UN APPROCCIO INNOVATIVO

A. Traversa, S. Lanzilli, F. Rubinetti, R. Bervini, G. Bruatto, E. Coruzzi, M. Gilli, A. Mendolicchio, E. Osella, E. Stassi, C. Biglia

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

L'audit è un controllo pregnante per la verifica del sistema di sicurezza alimentare attuato dalle imprese. L'emergenza COVID-19 ha favorito lo sviluppo di un'innovativa metodologia per l'auditing sulla grande

distribuzione organizzata (GDO). Questa si sviluppa in 4 fasi. Fase 1 [giorno 0]: avviso all'auditee [data/ora, gruppo auditor, argomenti d'esame, avviso di ispezione sui punti vendita (PV)] e richiesta documentazione (PV/planimetrie/addetti/laboratori carni-prodotti ittici/estratto piano autocontrollo). Fase 2 [gg 15-30]: studio documentazione e definizione obiettivi di controllo nei PV (briefing con squadre operative) tra cui la valutazione di performance degli addetti. Fase 3 [g 30]: audit - verifica documentale in videoconferenza con l'operatore del settore alimentare (OSA) e contestuale ispezione a sorpresa presso PV (da 2 a 5, individuati con criteri oggettivi). Fase 4 [gg 35-50]: invio report di audit e prescrizioni. Nel 2020-21 sono state auditate 13 catene GDO con impegno di circa 150 ore/audit e coinvolgimento medio di 15 risorse umane (dirigenti veterinari, TPALL e personale amministrativo-tecnico). Si presentano 2 "casi" rappresentativi della maturità culturale dell'impresa in tema di gestione sicura delle produzioni alimentari in accordo con il Reg. UE 382/21. Caso 1. Sistema aziendale di sicurezza alimentare formalmente adeguato a livello documentale che, per le evidenze raccolte sui luoghi, si rivela non organizzato e incapace di individuare non conformità (NC). Nei fatti l'OSA riteneva applicato il P4 HACCP (monitoraggio CCP "temperatura in fase di stoccaggio/vendita prodotti deperibili") con la lettura del display delle attrezzature espositive e sostituiva le medesime a fine garanzia (manutenzione preventiva). Le evidenze raccolte presso un PV dimostravano l'inefficacia del sistema (riscontro di prodotti della pesca congelati in abuso termico; display -24°C, T° al core -17.6°C) oltre all'assoluta assenza del programma di manutenzione. Caso 2. In PV (controllo ufficiale (CU) ordinario) rilievo di grave NC (vendita di prodotti cotti caldi in abuso termico) e impossibilità contestuale, sui luoghi, di individuare i profili di responsabilità per comporre la notizia di reato. Un successivo controllo su altro PV pari impresa (audit da remoto con i vertici aziendali) ha permesso di accedere, in tempo reale, a organigramma, funzionigramma, relative deleghe così individuando tutti i soggetti a vario titolo indagabili. La verifica nel PV di performance degli addetti permette di valutare il grado di recepimento delle istruzioni operative impartite dall'OSA, la reattività del sistema aziendale e, implicitamente, il P6 HACCP. Le GDO hanno la tendenza, in caso di NC a non analizzarne le cause ponendo in essere i soli correttivi. Fondamentale è lo studio preliminare della documentazione attinta per individuare gli "indicatori" utili a indirizzare il CU sui luoghi. L'innovativa metodologia di controllo proposta è utile sia per l'Autorità competente (AC) [ampia e organica visione dell'auditee, categorizzazione reale del rischio, riduzione dei costi di CU (altrimenti frammentato nel tempo presso i diversi PV)] e sia per l'OSA (da remoto presso propria sede, disponibilità di ogni documento, informazione in tempo reale sulle evidenze raccolte durante il CU). Da entrambi gli attori (AC e OSA) sono raccolti tutti gli elementi utili a delineare l'effettiva applicazione del sistema aziendale di sicurezza alimentare e le relative criticità.

C33

RICERCA DI MICROPLASTICA IN ESEMPLARI DI *SEPIA OFFICINALIS* CATTURATE NELLE COSTE DEL MAR ADRIATICO CENTRALE

L. Pennisi, A. Armellini, A. De Camillis

Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Teramo, Località Piano d'Accio, Teramo, Italy

Vista l'attualità dell'argomento, le numerose specie acquatiche coinvolte, molte delle quali oggetto di alimentazione da parte dell'uomo e visti i pochissimi dati bibliografici sulla specie oggetto del lavoro, ci

è sembrato interessante condurre un'indagine conoscitiva sulla presenza di microplastiche (μ Ps) in *Sepia officinalis* catturate nel Mare Adriatico Centrale, lungo la costa nord abruzzese. L'indagine è stata condotta su n. 122 esemplari di *Sepia officinalis* catturati nel mar Adriatico Centrale. Per ogni soggetto sono state effettuate diverse rilevazioni morfometriche ed ottenuti i rapporti biometrici maggiormente significativi ed è stata, inoltre, valutata l'età ed il sesso. Si è proceduto, quindi, al prelievo dell'apparato gastroenterico e l'estrazione del materiale plastico è stato effettuato con l'idrossido di potassio (KOH) al 10%. Il sedimento ottenuto è stato analizzato mediante microscopia ottica. La relazione tra presenza e la quantità percentuale delle microplastiche in rapporto alle dimensioni, al sesso ed all'età dei soggetti è stata oggetto di analisi statistica. Il presente studio ha rilevato, per la prima volta, l'ingestione di microplastiche (μ Ps) in esemplari di *Sepia officinalis* prelevate dal Mar Adriatico. Le microplastiche sono state osservate nell'80% dei soggetti, con una concentrazione media di $1,06 \pm 0,32$ μ Ps per soggetto. Nei campioni esaminati sono stati osservati tre tipi di microplastiche; i frammenti, di colore nero, le fibre, di colore blu e sfere trasparenti. Utilizzando l'iconografia prodotta precedentemente da altri Autori, possiamo ipotizzare che le μ Ps da noi isolate appartenerebbero a tre tipi di polimeri, il poliestere, il polivinilcloride e il poliammide. Non sono state registrate differenze statisticamente significative tra la presenza delle μ Ps ed i rapporti biometrici calcolati, il sesso e l'età dei molluschi. L'ubiquità delle microplastiche nelle acque, nei sedimenti e negli animali pone in evidenza la prevalenza di questo contaminante nei nostri mari. Le microplastiche possono essere ingerite dagli organismi marini rappresentando un potenziale rischio per la salute dei consumatori. Alcuni Autori hanno, infatti, dimostrato che l'esposizione a microsfele di plastica delle dimensioni di 10 μ m potrebbe indurre un'elevata produzione di ossigeno reattivo, specie nelle cellule umane cerebrali ed epiteliali. I rischi associati all'ingestione di μ Ps non sono dovuti solo al materiale stesso ma anche agli additivi chimici incorporati durante la produzione, come il bisfenolo A e gli ftalati che sono noti interferenti endocrini, e alla loro capacità di assorbire e concentrare contaminanti ambientali, tra cui inquinanti organici persistenti e metalli, e successivamente trasferirli attraverso le catene alimentari dopo l'ingestione. L'Unione Europea, attraverso l'emanazione della Direttiva Quadro sulla strategia marina (Direttiva 2008/56/EC), richiede che le tendenze nell'abbondanza e nella distribuzione della microplastica siano monitorate nelle acque europee. Sono necessari, quindi, ulteriori studi per determinare il coinvolgimento di altre specie mai prese in esame, le implicazioni dovute all'ingestione delle μ Ps sulla salute dei pesci e le conseguenze igienico-sanitarie per il consumatore.

C34

DNA METABARCODING PER L'IDENTIFICAZIONE DI SPECIE IN FISH BURGER

A. Mottola¹, R. Piredda¹, G. Catanese^{2,3}, F. Giorelli⁴, G. Cagnazzo⁴, G. Ciccarese⁴, A. Dambrosio¹, N.C. Quaglia¹, A. Di Pinto¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Valenzano (BA), Italy; ²Laboratori d'Investigacions Marines i Aqüicultura (LIMIA), Govern de les Illes Balears, Port d'Andratx, Balearic Islands, Spain; ³INAGEA (INIA-CAIB-UIB), Palma, Balearic Islands, Spain; ⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Campi Salentina, (LE) Italy

I cambiamenti nelle abitudini alimentari degli ultimi anni hanno determinato un significativo aumento dei consumi di prodotti ittici preparati e trasformati pronti da cuocere (RTC, Ready-To-Cook) e

pronti al consumo (RTE, *Ready-To-Eat*). Privi di peculiarità morfologiche, essenziali per il riconoscimento delle specie ittiche, i prodotti preparati e trasformati sono maggiormente esposti alle frodi dovute a sostituzione di specie. L'autenticazione e la tracciabilità degli alimenti rivestono un ruolo ispettivo strategico per assicurare qualità e sicurezza. Pertanto, obiettivo del presente lavoro è rilevare e identificare le specie ittiche impiegate nella produzione di *fish burger*, prodotti multi-specie, mediante l'applicazione di tecniche di sequenziamento di nuova generazione (*Next-generation sequencing - metabarcoding*). L'indagine ha previsto l'analisi di 5 campioni di burger di pesce, acquistati presso supermercati e punti vendita al dettaglio, le cui etichette riportavano in modo volontario indicazioni relative alla denominazione commerciale e scientifica delle specie impiegate. Il percorso sperimentale ha previsto prima l'estrazione del DNA e l'amplificazione di un frammento di circa 200 bp del gene mitocondriale 16S rRNA e, successivamente, il sequenziamento mediante piattaforma Illumina (2 x 150 bp) (LGC Genomics GmbH, Berlin, Germany). I dati del sequenziamento sono stati, quindi, sottoposti ad analisi bioinformatica. L'analisi *metabarcoding* ha rilevato casi di sostituzione di specie particolarmente rilevanti con un'elevata percentuale (80%) di dichiarazioni non corrispondenti a quanto riportato in modo volontario in etichetta. È stata, infatti, rilevata la presenza di DNA appartenente a specie ittiche non indicate in etichetta, di cui alcune non incluse nell'Allegato 1 del Decreto Ministeriale Mipaaf n°19105 del 22 settembre 2017. Dai risultati ottenuti è emersa anche la presenza di specie allergeniche non dichiarate ai sensi del Reg. (UE) 1169/2011, aspetto che solleva rilevanti dubbi di ordine sanitario. Lo studio ha evidenziato anche la presenza di DNA di origine bovina, attribuibile al dichiarato utilizzo di "formaggio", e la presenza, inattesa, di DNA di origine suina, non associabile ad alcun ingrediente riportato in etichetta. Da un punto di vista legislativo, il presente studio rappresenta un'ulteriore conferma delle carenze legate alla etichettatura dei prodotti ittici trasformati. Infatti, la mancanza dell'obbligo di dichiarazione delle denominazioni scientifica e commerciale delle specie ittiche utilizzate nella produzione di tali alimenti, si rivela in forte contrasto con i principi delle normative europee in materia di sicurezza degli alimenti. Al fine di rafforzare i sistemi di tracciabilità e rintracciabilità aziendale e di supportare le attività di controllo da parte dell'Autorità Competente, le tecnologie di sequenziamento di nuova generazione si configurano come un promettente strumento analitico, applicabile all'autenticazione dei prodotti ittici trasformati multi-specie, a garanzia di un innovativo sistema di gestione della sicurezza alimentare.

C35

INDAGINE SULLA PRESENZA DI MICROPLASTICHE IN PESCE GHIACCIO (*NEOSALANX SPP.*) REGOLARMENTE COMMERCIALIZZATO

L. Nalbone, G. Ziino, F. Giarratana, B. Romana, F. Cincotta, A. Panebianco

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina, Polo Universitario dell'Annunziata, Messina, Italy

L'impatto delle microplastiche presenti negli alimenti non è ancora realmente conosciuto ne è stata fatta una verosimile valutazione del rischio per insufficiente conoscenza dei vari parametri necessari a partire dai reali livelli di esposizione. In quest'ottica, lo scopo del presente studio è stato quello di indagare sulla presenza di microplastiche in campioni di pesce ghiaccio (*Neosalanx spp.*) nelle tipo-

logie commerciali comunemente vendute in Italia: congelati, glassati e confezionati sottovuoto. Un totale di 40 confezioni di pesce ghiaccio sono state campionate presso le GDO nelle provincie di Messina, Reggio Calabria e Vibo Valentia (Italia). Secondo quanto riportato in etichetta, tutti i campioni di pesce ghiaccio erano stati pescati presso il lago Thai Hu, Cina. Dopo scongelamento a temperatura ambiente, venivano prelevati circa 10 g di pesce ghiaccio da ciascuna confezione e digeriti con una soluzione al 10% di Iodossido di Potassio (40 g/mL v.v.) per 24 ore in agitazione costante ad una temperatura di 40°C. Una volta digeriti, i campioni venivano filtrati con l'ausilio di una pompa da vuoto attraverso filtri in esteri di cellulosa con pori del diametro di 5 µm. I filtri venivano quindi osservati allo stereomicroscopio per l'individuazione e la conta di potenziali particelle plastiche e la classificazione in base alla forma (fibre, frammenti, granuli, pellet, film), al colore e alle dimensioni. Il 20% delle particelle isolate veniva quindi sottoposto ad analisi di spettroscopia a infrarossi (FTIR) per la determinazione della composizione chimica. Sono state isolate 163 particelle in 37 campioni (92,5%), con una netta prevalenza di fibre (88,34%; 144/163), seguite dai frammenti (9,82%; 16/163), granuli (1,23%; 2/163) e film (0,61%; 1/163). Per ciascun campione si isolavano da un minimo di 1 a un massimo di 10 particelle. Le fibre, di colore blu (101) e nero (43), avevano una lunghezza compresa tra 100-6000 µm; i frammenti, di colore blu (12) e giallo (4), erano di dimensioni comprese tra 50-500 µm mentre i 2 granuli e la particella classificata come film erano bianchi di dimensioni comprese tra 100-200 µm. L'analisi FTIR è stata condotta su 34 potenziali particelle plastiche e sono state identificate 9 fibre in polipropilene, 7 fibre in rayon, 5 frammenti in polietilene, 4 frammenti in polietilene tereftalato, 2 granuli in polistirolo, 1 film in polietilene e 6 fibre di cotone. Negli ultimi anni, particolare attenzione è stata rivolta verso le microplastiche, particelle di dimensioni tali (<5 mm) da poter essere ingerite da organismi viventi oggetto di consumo da parte dell'uomo. Gli studi sulla loro presenza nei pesci d'acqua dolce destinati al consumo umano sono ancora limitati. Per quanto riguarda l'origine delle particelle identificate nel nostro studio, quelle di dimensioni maggiori potrebbero derivare dagli ambienti di lavoro durante le fasi di produzione: dalle reti da pesca durante la cattura, dall'acqua impiegata per la glassatura, dagli indumenti del personale e, come ben noto, da particelle veicolate dall'aria. Inoltre, non è possibile escludere che i pesci abbiano ingerito le particelle (soprattutto quelle più piccole) dall'ambiente acquatico o che esse siano rimaste adese sulla cute anche considerati gli alti livelli di contaminazione da microplastiche segnalate nelle acque e nei sedimenti del lago Thai Hu.

C36

VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI IMBALLAGGI FUNZIONALIZZATI CON PEPTIDE ANTIMICROBICO SULLA *SHELF LIFE* DI HAMBURGER DI LAMPUGA (*CORYPHAENA HIPPIURUS*)

R.L. Ambrosio¹, G. Palmieri², R. Marrone¹, M. Balestrieri², M. Gogliettino², A. Anastasio¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli "Federico II", Napoli; ²Istituto di Bioscienze e Biorisorse, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Napoli, Italy

I prodotti della pesca freschi conservano un ruolo importante nella dieta umana; tuttavia, essendo un ottimo mezzo di crescita per molti microrganismi, essi si caratterizzano per una ridotta *shelf-life*.

Negli ultimi decenni, la comunità scientifica si pone l'ambizioso obiettivo di ridurre l'impatto del deterioramento microbico sulle perdite di approvvigionamento alimentare proponendo soluzioni efficaci ed innovative, tra cui i packaging antimicrobici. Questo studio si pone l'obiettivo di valutare l'efficacia, in termini di riduzione delle popolazioni microbiche correlate al deterioramento di hamburger di lampuga (*Coryphaena hippurus*), di un imballaggio primario in polipropilene (PP) funzionalizzato con un peptide antimicrobico precedentemente caratterizzato e denominato 1018-K6. N. 21 campioni di hamburger di lampuga (200 g), preparati allo scopo da un'azienda del settore, sono stati divisi in due gruppi sperimentali: *i*) gruppo controllo (HL CTR: hamburger a contatto con dischi PP non funzionalizzati col peptide 1018-K6); e *ii*) gruppo trattato (HL 1018-K6: hamburger a contatto con dischi PP funzionalizzati col peptide 1018-K6). I campioni sono stati allestiti adagiando i dischi PP (5x5 cm) sulle superfici superiore ed inferiore degli hamburger e conservati a 4°C in vaschette in polistirene espanso. Le analisi sono state eseguite a T0 (1 giorno dalla data di pesca), T1, T2 e T3 (3, 5 e 7 giorni dalla data di inizio della sperimentazione, rispettivamente). Ad ogni intervallo, su 3 campioni per ogni gruppo sperimentale sono state eseguite le seguenti analisi microbiologiche: Carica Batterica Totale a 5° e 32°C (ISO 17410:2019 e ISO 4833-1:2013, rispettivamente), *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-2:2017), Coliformi (ISO 4831:2006), *Escherichia coli* (ISO 16649-1:2018), *Pseudomonas spp.* (ISO 13720:2010), Lattobacilli mesofili (ISO 15214:2015), Streptococchi fecali e Stafilococchi coagulasi positivi (ISO 6888-1:2018). In aggiunta, per ogni campione sono stati valutati pH, a_w (activity water) e l'aspetto organolettico (il panel test è stato eseguito da 5 esperti panelisti). I risultati hanno mostrato che odore, consistenza e colore sono evoluti in egual modo nei campioni trattati e nei campioni controllo; le caratteristiche sensoriali sono state giudicate accettabili fino al 5° giorno (T2) per i campioni non trattati e 7 per quelli confezionati con imballaggio funzionalizzato. I risultati microbiologici denotano un'evidente attività antimicrobica del packaging funzionalizzato a 5 giorni verso coliformi, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas spp.*, *E. coli* e Streptococchi fecali, con un abbattimento di circa 1 Log (UFC/g) rispetto al gruppo controllo. Dal momento che non esistono riferimenti normativi cogenti che indichino limiti microbiologici per questa categoria di alimenti, facendo riferimento ai i limiti microbiologici proposti dall'International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) per CBT 30°C ed *E. coli* (limite massimo pari a 7 Log (UFC/g) e 2,69 Log (UFC/g), rispettivamente) dai risultati del nostro lavoro si evince che i suddetti limiti non vengono superati solo nei campioni trattati. Concludendo, l'imballaggio antimicrobico sembra offrire un concreto ed efficace strumento in grado di monitorare e rallentare la replicazione microbica superficiale e, quindi, prolungare la *shelf-life* e migliorare l'aspetto igienico-sanitario dei prodotti della pesca freschi.

C37

VALUTAZIONE DELL'ATTIVITA' ANTIMICROBICA DI COMPOSTI PURI OTTENUTI DA *PSEUDOALTEROMONAS HALOPLANKTIS* VERSO IL MICROORGANISMO PATOGENO *LISTERIA MONOCYTOGENES*

I. Venuti¹, M. Ceruso^{1*}, C. D'angelo², A. Casillo³, T. Pepe¹

¹Department of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples Federico II, Naples; ²Department of Agricultural Sciences, University of Naples Federico II, Naples; ³Department of Chemical Sciences, University of Naples Federico II, Naples, Italy

L. monocytogenes (*L.m.*) è un microrganismo patogeno, responsabile di una grave malattia a trasmissione alimentare (MTA). *L.m.* può essere causa di mortalità, in particolare nelle categorie di consumatori più vulnerabili. Le condizioni di crescita e l'elevata capacità di resistenza a condizioni estreme rendono *L.m.* tra i più insidiosi e studiati microrganismi patogeni. Negli ultimi anni, la comunità scientifica ha mostrato crescente attenzione per la ricerca di nuove molecole naturali ad attività antimicrobica, finalizzate alla prevenzione della diffusione di MTA. Tali molecole, che possono avere origine vegetale, animale o batterica, potrebbero coadiuvare e/o sostituire i conservanti chimici utilizzati nell'industria alimentare. I microrganismi estremofili tipici di ambienti con temperature estreme, come quelli artatici, costituiscono una preziosa fonte di tali molecole. I batteri estremofili, infatti, instaurano meccanismi competitivi basati sulla produzione di sostanze biologicamente attive in grado di contrastare la crescita di altri microrganismi. Scopo del presente lavoro è stato studiare la possibile attività antibatterica di quattro composti puri, derivati da una molecola prodotta dal batterio antartico *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAC125, nei confronti di due differenti patotipi di *L. monocytogenes*. In particolare, sono stati ottenuti e testati il pentadecanale (la molecola originata da *P. haloplanktis* TAC125), e l'acetale, l'acido carbossilico e l'estere metilico da esso derivati. I composti liofilizzati, sono stati risospesi in dimetilsolfossido (DMSO) puro al 99.9% (Biofroxx). Al fine di studiare l'attività antibatterica di tali composti, sono stati testati due ceppi di *L. monocytogenes* H2048 (sierotipo 4b) e H2053 (sierotipo 1/2a), isolati da campioni clinici. La rivitalizzazione è avvenuta su piastre Brain Heart Infusion (BHI) agar mediante incubazione a 37°C per 24 h. Le colture pure testate sono state ottenute inoculando una colonia tipica in 5 mL di BHI broth, mantenute in agitazione continua a 37°C per 24 h. Tali colture sono state successivamente diluite (1:1000) in BHI broth. Le prove di crescita sono state realizzate in piastre di polistirene da 96 pozzetti con fondo ad U (Falcon) con diluizioni seriali dei composti testati a differenti concentrazioni (0.6, 0.3, 0.15, 0.07, mg/ml) e 190 µl di coltura diluita. I controlli sono stati realizzati utilizzando 10 µl di DMSO e 190 µl di brodo BHI (controllo negativo) oppure 190 µl di coltura diluita (controllo positivo). Le piastre sono state incubate a 37°C per 24 h, con una lettura spettrofotometrica ogni 2 ore, mediante Glomax multi + detection system (Promega), OD 600 nm. I risultati preliminari delle indagini hanno dimostrato che il pentadecanale inibisce la crescita di *L.m.*, con una MIC (Minimum Inhibiting Concentration) di 0.6 mg/mL. Acetale, acido carbossilico ed estere non hanno dimostrato attività antibatterica alle concentrazioni testate. I risultati ottenuti da questo studio hanno evidenziato la possibilità di utilizzare il pentadecanale come antibatterico naturale allo scopo di elevare gli standard di sicurezza delle filiere agroalimentari. Ulteriori indagini sono in corso per confermare l'attività antilisteria di tale composto ed individuare le potenziali applicazioni nell'industria alimentare.

C38

VALUTAZIONE DELL'INFETTIVITÀ DI HAV IN VEGETALI READY-TO-EAT

P. Lorusso¹, A. Pandiscia¹, E. Bonerba¹, G. Tantillo², V. Terio¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Valenzano (BA); ²Dipartimento Interdisciplinare di Medicina, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italy

Le insalate Ready-to-eat (RTE), i molluschi bivalvi e i frutti di bosco congelati, costituiscono uno dei principali veicoli del virus

dell'Epatite A (HAV) associato ad epidemie gastroenteriche in Europa. L'obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare la presenza dell'HAV, mediante metodiche biomolecolari, capaci di determinare il potere infettante del virus presente in campioni di insalate RTE commercializzate sul territorio italiano. Sono state analizzate 135 insalate RTE utilizzando il metodo della reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) accoppiata all'utilizzo del colorante intercalante propidium monoazide (PMAxx). Nel 28,4% dei campioni analizzati è stata riscontrata la presenza di RNA di HAV, di cui solo l'8,9% è ascrivibile a RNA proveniente da particelle virali infettanti. Considerando le diverse tipologie di insalate RTE analizzate, la percentuale di positività attribuibile alla presenza dell'RNA virale è stata così riscontrata: 4,4% nell'insalata mista, 4,4% nelle carote, 6,7% nella valeriana, 2,2% nella rucola e 4,4% nella lattuga iceberg. Inoltre, nel 100% dei campioni di carote l'RNA è risultato proveniente da particelle virali infettanti, mentre nei campioni di valeriana e di lattuga solo il 33,3% e il 50% di RNA rispettivamente, proveniva da particelle virali vive e vitali. L'alta positività riscontrata nei campioni analizzati potrebbe essere ascrivibile a due fattori: da un lato alla loro provenienza, essendo stati prelevati esclusivamente da due industrie ortofrutticole del Nord Italia e dall'altro per la possibile contaminazione delle acque utilizzate durante il processo produttivo, che successivamente andrebbero indagate. I risultati di questo studio confermano dunque, che le insalate RTE rappresentano un

importante veicolo, per la trasmissione di virus associati a focolai di malattie gastroenteriche, quali HAV e NoV. Inoltre, è evidente che i sistemi di disinfezione utilizzati nelle industrie ortofrutticole, come l'ipoclorito e il bicarbonato di sodio, non siano in grado di eliminare la presenza di tali virus, che sono molto resistenti in ambiente e nei confronti dei disinfettanti a base di cloro. Dal 1° Gennaio 2019 è entrata in vigore l'intesa n°131 tra il Governo, le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano, sul documento concernente "Linee guida per il controllo ufficiale ai sensi dei Regolamenti 882/2004 e 854/2004", nella quale per la prima volta, viene introdotto, per gli alimenti più a rischio (molluschi bivalvi e ortaggi di IV gamma) il rispetto di parametri virologici quali assenza di HAV e NoV, mediante l'utilizzo di test diagnostici molecolari (ISO/TS 15213). Dato che con tali tecniche diagnostiche è possibile valutare esclusivamente la presenza dell'RNA virale ma non la sua infettività, diventa ancora più evidente la necessità di utilizzare metodiche standardizzate, capaci di effettuare da un lato un'analisi qualitativa e dall'altro di valutarne l'infettività. A tal fine, dal momento che, la salvaguardia della salute pubblica richiede interventi immediati e preventivi, il test PMAxx RT-PCR proposto nel nostro studio, potrebbe diventare il metodo gold standard utile a verificare la presenza di particelle virali native e inattivate, garantendo un'analisi dei rischi, attendibile e puntuale, la salvaguardia della salute pubblica associata ad una maggiore tutela del produttore.

SFIDE GLOBALI NELLA GESTIONE DELLE CRITICITÀ DELLE FILIERE ALIMENTARI

Webinar live 16-17 e 23-24 Settembre 2021



SESSIONE POSTER

Venerdì 24 settembre 2021

P01

RICERCA DELL'ALLERGENE SEDANO (*APIUM GRAVEOLENS*) NEGLI ALIMENTI MEDIANTE DIGITAL PCR

S. Cau¹, M.G. Tilocca¹, C. Spanu², B. Soro¹, T. Tedde¹, S. Salza¹, R. Melillo¹, G. Piras¹, S. Virgilio¹, B. Vodret¹, A.G. Mudadu¹¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffi", Sassari;²Dipartimento Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italy

Il sedano è incluso tra i 14 allergeni che ai sensi del Regolamento (UE) 1169/2011 devono essere obbligatoriamente indicati in etichetta. Tale obbligo sussiste esclusivamente per gli allergeni volontariamente utilizzati nella preparazione degli alimenti e non disciplina la loro involontaria presenza dovuta a cross contaminazione. In questi casi gli operatori del settore alimentare, a scopo cautelativo, includono indicazioni volontarie in etichetta ("prodotto in uno stabilimento che utilizza anche..." o "può contenere tracce di..."). Al fine di tutelare la salute dei consumatori sensibili e di assicurare la conformità con le disposizioni vigenti sono necessari metodi sensibili e affidabili per la ricerca di allergeni negli alimenti. Considerata la scarsa specificità dei saggi immunoenzimatici per la ricerca del sedano negli alimenti sono preferiti metodi analitici basati sull'analisi del DNA. Attualmente, la real-time PCR (RT-PCR) per specifiche sequenze del gene mannitolo deidrogenasi (Mtd) è il metodo di elezione per la ricerca dell'allergene sedano. Tuttavia, la RT-PCR necessita di curve di calibrazione per il DNA target. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di testare l'applicabilità di una metodica di droplet digital PCR (dd-PCR) per la quantificazione dell'allergene sedano. A tale fine sono state condotte delle prove preliminari su diluizioni seriali di DNA ottenuto da polvere di sedano per l'ottimizzazione dei parametri di reazione. Successivamente sono state determinate le performance del saggio: limite di determinazione (LOD), limite di quantificazione (LOQ), ripetibilità, specificità ed influenza della matrice. Infine, il saggio è stato utilizzato per la quantificazione dell'allergene sedano su diverse tipologie di alimenti del commercio quali: passate di pomodoro, zuppe e puree vegetali e di carne, ragù di carne, prodotti a base di carne e pesce. Per i primer (Cel-MDH-i F/R) e per la sonda (Cel-MDH-probe) utilizzati è stata individuata una concentrazione ideale corrispondente rispettivamente a 0.9 μM e 0.250 μM . La temperatura ottimale di annealing era 60°C. IL LOD era 0.20±0.12 Cp/ μL mentre il LOQ era 0.83±0.20 Cp/ μL . Il saggio dd-PCR non ha dimostrato cross reattività con altre specie vegetali, dimostrando buona specificità, così come è stata osser-

vata una buona ripetibilità sia intra-saggio che inter-saggio (CV<20%). Non è stato evidenziato effetto della matrice sulle performance del saggio (R2 >0.999). Il metodo è stato in grado di quantificare la presenza del sedano in tutti i prodotti in cui l'allergene era indicato in etichetta. In due campioni in cui indicata a scopo cautelativo la presenza di sedano in tracce, l'allergene non è stato rilevato. La presente metodica si è dimostrata efficace nel quantificare il sedano in diversi alimenti e con una buona ripetibilità. Può essere utilizzata dai laboratori come saggio di screening sia per verificare la conformità dei prodotti alle disposizioni normative sia per dare garanzie di sicurezza alle categorie di consumatori sensibili. Tuttavia, è necessario condurre ulteriori studi per confrontare il saggio con altre metodiche quali la cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS) o la RT-PCR. Al fine di poter definire dei livelli soglia per la presenza di allergeni sarà necessario introdurre un fattore di conversione in grado di esprimere il numero copie di DNA dell'allergene rilevate mediante dd-PCR con il suo quantitativo effettivo nell'alimento.

P02

GESTIONE EMERGENZA SANITARIA COVID-19: L'ESPERIENZA DEL SERVIZIO DI IGIENE DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE DELL'ASUR MARCHE AREA VASTA 4 DI FERMO

L. Di Giacomo, A. Angellotti, M. Castagna, S. Fichera, V. Gentili, F. Livini, L. Marilungo, F. Pasquali, A. Riganatou, S. Ruggeri, E. Ferretti

Dipartimento di Prevenzione, Servizio degli Alimenti di Origine Animale, ASUR Marche Area Vasta 4 di Fermo, Italy

L'applicazione delle misure restrittive dovute all'emergenza COVID-19 ha reso necessaria la rimodulazione delle attività del Servizio nel rispetto delle misure di prevenzione pur garantendo l'efficacia del controllo ufficiale. Per meglio definire le attività non differibili, oltre a quelle indicate nelle Linee guida ministeriali del 2 marzo 2020 (macellazioni e controlli per allerte alimentari), il Servizio ha aggiunto altre attività quali: piano di monitoraggio delle zone di produzione molluschi bivalvi vivi, certificazioni per esportazione, interventi per tossinfezioni alimentari, controlli su comando degli Uffici Veterinari Adempimenti Comunitari, sopralluoghi su richiesta, visita selvaggina cacciata per piani di abbattimento. Inoltre, nell'ambito di attività congiunta, il Servizio ha collaborato nella diffusione agli operatori alimentari (OSA) delle indicazioni regionali per la gestione dell'emergenza sanitaria. Al fine di garantire la sicurezza del personale sanitario, sono stati rimodulati i turni di lavoro pur garantendo l'intera copertura oraria. Il personale dirigente non ha usufruito del lavoro agile, mentre per i dirigenti con incarichi gestionali è stata attivata la connessione remota "Remote Desktop Protocol" fruibile da casa per accedere alle cartelle di lavoro e alla posta certificata. È stata definita una nuova strategia operativa in applicazione del Regolamento di Esecuzione (UE) n. 466/2020, relativo alle misure temporanee volte a contenere

rischi sanitari da COVID-19. Sono state impartite indicazioni per la conduzione delle attività di ispezione/audit in modalità "da remoto" e per la gestione dei relativi esiti in tempi relativamente brevi. L'attività è stata inserita nel sistema informativo regionale con evidenza che trattasi di controllo effettuato a distanza. Nel caso specifico degli audit c'è stata una rimodulazione rispetto a quanto programmato sia da un punto di vista numerico che per i criteri di scelta degli stabilimenti, legati non solo alla categorizzazione del rischio, ma anche alle capacità strumentali e di formazione dell'OSA per sostenere i controlli in modalità on-line. In merito a quest'ultimo aspetto è doveroso sottolineare che la realtà produttiva locale è caratterizzata da piccole e medie imprese alimentari a conduzione familiare dove è difficile applicare il controllo a distanza. Ciò è da ricondurre alla limitata formazione dell'OSA sulle tecnologie dell'informazione e della comunicazione (ITC) e alla mancanza di strumenti idonei per la verifica a distanza dei requisiti strutturali e igienico-sanitari. Questo aspetto è stato parzialmente superato con gli audit "misti": gli auditor hanno effettuato il controllo documentale sugli obiettivi della verifica da remoto, il veterinario incaricato il controllo strutturale "in situ". La nuova metodologia adottata è risultata vantaggiosa per i costi contenuti, si è dimostrata efficace per la verifica di determinati criteri (es. tracciabilità, campionamento/analisi in autocontrollo), mentre meno per altri (es. lotta infestanti, gestione sottoprodotti). Sicuramente l'evoluzione tecnologica degli ITC aumenterà le potenzialità operative del controllo a distanza, se accompagnato da adeguata formazione e dell'OSA e del personale dell'autorità competente. In conclusione l'esperienza maturata durante tale emergenza sanitaria è vista come opportunità di miglioramento del controllo ufficiale, integrando i controlli "classici" con verifiche basate su nuove tecnologie.

P03

CONTROLLI CHIMICI SULLE VERDURE A FOGLIA LARGA: ESISTE UN RISCHIO NITRITI?

M. Iammarino, G. Berardi, V. Vita, C. Marseglia, A. Di Taranto

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

Il Regolamento N. 1881/2006/CE stabilisce i limiti per le concentrazioni di nitrato nei vegetali a foglia, mentre i nitriti dovrebbero essere assenti. Tuttavia, alcuni studi recenti hanno dimostrato che non è raro riscontrare concentrazioni insolitamente elevate di nitriti in questi prodotti. In tale contesto si inserisce il presente studio sui livelli di nitriti e nitrati nelle verdure a foglia come spinaci, lattuga, bietola e rucola. In questo monitoraggio sono stati analizzati 230 campioni, ovvero lattuga (75), spinacio (75), bietola (50) e rucola (30). Le analisi sono state effettuate mediante una tecnica validata ed accreditata in HPLC di scambio ionico, ed i risultati più interessanti sono stati confermati mediante una tecnica alternativa, sempre validata ed accreditata, di cromatografia ionica capillare. Lattuga. I livelli di nitrato nei campioni di lattuga sono risultati elevati (concentrazione massima: 5101,0 mg/kg). Concentrazioni superiori ai limiti vigenti sono state registrate in 5 campioni, ovvero un campione di lattuga "Cappuccio", Trocadero" e "Scarola" e 2 campioni di lattuga "Romana". Per quanto concerne i nitriti, sono stati quantificati solo in un campione di lattuga "Romana" (66,5 mg/kg). Spinacio. Anche per gli spinaci sono stati registrati livelli elevati, fino a 2978,1 mg/kg in un campione di spinaci surgelati. Concentrazioni superiori al limite di legge sono state accertate in 4 campioni (3 spinaci surgelati ed un IV gamma). Concentrazioni elevate di nitriti sono state quantificate in 3 campioni: 173,7, 197,5 e 106,8 mg/kg in 2 campioni di IV

gamma ed un surgelato. Bietola. La concentrazione media di nitrato quantificata nei campioni di bietola (2217,3 mg/kg) è risultata superiore rispetto a quella relativa ai campioni di lattuga e spinaci (rispettivamente 976,6 e 953,4 mg/kg). Questo primo dato è significativo in quanto attualmente non sono previsti limiti per i nitrati nelle bietole. Riguardo i nitriti, solo in un caso sono stati quantificati livelli elevati (un campione in busta - IV gamma: 131,6 mg/kg). Rucola. La concentrazione media di nitrato nei campioni di rucola (4860,9 mg/kg) è risultata ben più elevata rispetto alle altre matrici oggetto di indagine, in quanto tale accumulo è caratteristico della famiglia delle *Brassicaceae* (Figura 1). In questa indagine, un campione ha fatto registrare una concentrazione di nitrato più elevata rispetto al limite (7206,4 mg/kg), mentre per i nitriti vi è stata una quantificazione di concentrazioni elevate (fino a 219,5 mg/kg) in 2 campioni. Il monitoraggio dei nitriti e nitrati nei vegetali a foglia di ampio consumo (lattuga, spinacio, bietola e rucola) ha permesso di trarre importanti conclusioni, quali: 1) Sono state quantificate concentrazioni di nitrato più elevate rispetto ai limiti di legge in 10 campioni, confermando la necessità dei controlli ufficiali. 2) Date le elevate concentrazioni di nitrati quantificate nei campioni di bietola è possibile suggerire l'introduzione di un limite massimo anche per questo prodotto nell'attuale Normativa. 3) Le concentrazioni di nitriti in questi prodotti possono risultare particolarmente elevate, per cui è possibile suggerire l'introduzione di limiti di legge in Normativa. Inoltre è auspicabile lo studio dei meccanismi che portano allo sviluppo di nitriti nei vegetali a foglia.

Lavoro svolto grazie ai finanziamenti "Ricerca corrente 2020" del Ministero della Salute - Progetto IZSPB 07/20 RC.

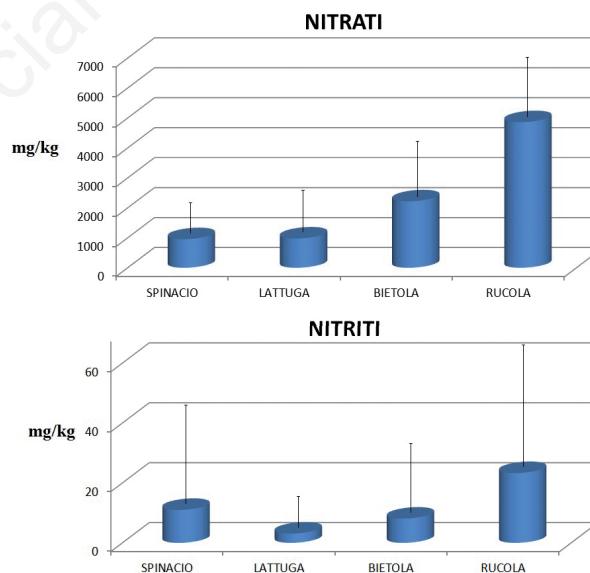


Figura 1.

P04

IL MONITORAGGIO DELLE AREE DI PRODUZIONE DEI MOLLUSCHI BIVALVI NELLA REGIONE MARCHE: UNA VALUTAZIONE CRITICA DEI RISULTATI OTTENUTI NEL PERIODO 2016-2020

C. Ciccarelli, G. D'Aurizio

¹ASUR Marche, Area Vasta 5, San Benedetto del Tronto; ²Regione Marche, Agenzia Regionale Sanitaria, P.F. Prevenzione Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Ancona, Italy

SCOPO. Il Reg. UE/2019/627 stabilisce che l'Autorità Competente deve classificare le zone di produzione autorizzate alla raccolta di molluschi bivalvi vivi in tre categorie in funzione del livello di contaminazione fecale. Lo stesso Regolamento prevede che tali zone siano monitorate sistematicamente al fine di verificare, tra l'altro, la qualità microbiologica dei molluschi bivalvi, la presenza di contaminanti chimici, il contenuto di biotossine marine e la presenza di plancton tossico nelle acque. La Regione Marche provvede annualmente alla revisione di questa classificazione e, con uno specifico piano di monitoraggio, ha definito frequenze, parametri analitici relativi e criteri per l'individuazione dei punti di campionamento in modo da garantire che risultati ottenuti siano il più possibile rappresentativi delle aree considerate. La frequenza di campionamento per i parametri microbiologici in mitili, ostriche e vongole è perlomeno mensile, con almeno 24 risultati nel triennio per ciascun punto di campionamento. Per le biotossine nei molluschi e per il controllo del fitoplancton tossico nell'acqua, la cadenza è quindicinale per i mitili e le ostriche, con aumento della frequenza quando vengono evidenziati fitoplancton tossico o biotossine nei bivalvi. Per le vongole il campionamento di acqua e di molluschi viene eseguito con frequenza annuale per ogni ex Zona Territoriale. Il controllo della presenza dei contaminanti chimici è annuale per ciascun punto di campionamento. Tutte le attività legate al monitoraggio sono registrate su SINVSA, il sistema informativo del Ministero della Salute, che viene alimentato con i dati forniti dalle Autorità Competenti Locali che eseguono il campionamento e dai Laboratori Ufficiali che eseguono le determinazioni analitiche. Questo studio, basato sui dati presenti nel SINVSA e sugli atti regionali per la classificazione delle aree di produzione dei molluschi bivalvi, si propone di eseguire una valutazione critica dei risultati ottenuti nel periodo 2016-2020 nell'ambito del monitoraggio di tali aree di produzione situate nella Regione Marche. METODI. Lo studio è stato articolato in due fasi: nella prima sono state eseguite l'acquisizione, dal sistema informativo SINVSA, dei risultati del monitoraggio delle aree di produzione, negli anni dal 2016 al 2020, e la raccolta degli atti regionali relativi alla classificazione di tali zone negli stessi anni; nella seconda, mediante tecniche di statistica descrittiva, è stata eseguita l'analisi dei dati raccolti e una valutazione critica delle informazioni ottenute. RISULTATI. L'analisi dei risultati del monitoraggio per n. 7196 campioni di molluschi e n. 2438 campioni di acqua nel quinquennio indicato ha mostrato andamenti distinti per i diversi parametri considerati e nelle diverse macro-aree riconoscibili nella Regione. In particolare, per le biotossine, le maggiori differenze su base annua sono state riscontrate nel gruppo DSP, mentre ASP e PSP non sono state mai rilevate. Le contaminazioni chimiche si sono mantenute sempre a livelli trascurabili mentre l'andamento dello *status* sanitario delle aree classificate ha mostrato un evidente trend favorevole nel corso dei 5 anni. CONCLUSIONI. Lo studio condotto con tecniche di statistica descrittiva ha consentito una valutazione critica dei risultati del monitoraggio delle aree di produzione di molluschi bivalvi vivi nella Regione Marche permettendo di riconoscere un trend favorevole nell'andamento dello *status* sanitario delle aree classificate.

P05

BOX BEHNKEN DESIGN PER L'OTTIMIZZAZIONE DI UN METODO ANALITICO PER LA DETERMINAZIONE DI NDL-PCBs IN CAMPIONI DI LATTE MEDIANTE GC/ECD E GC/MS/MS

V. D'Amico¹, V. Nardelli¹, I. Della Rovere¹, F. Casamassima¹, W.M.V. Marchesiello², D. Nardiello², M. Quinto^{2,3}

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italy; ²Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimenti, Risorse Naturali e Ingegneria, Università degli Studi di Foggia, Italy; ³Department of Chemistry, Yanbian University, Yanji City, Jilin Province, China

SCOPO. I policlorobifenili-non diossina simili (NDL-PCBs) sono un gruppo di composti organici altamente tossici e cancerogeni, persistenti sia nell'ambiente che lungo la catena alimentare per via del loro bioaccumulo e della resistenza alla degradazione. L'esposizione a lungo termine a queste sostanze causa una serie di effetti nocivi. A tutela della salute pubblica, la Commissione Europea ha stabilito i livelli massimi consentiti per la somma dei sei congeneri (NDL-PCB 28,52,101,138,153,180); in particolare il limite stabilito per la matrice latte è pari a 40 ng g⁻¹ di grasso. In considerazione dell'importanza della determinazione di questi composti, si è messo a punto un metodo di estrazione per la matrice latte, mediante un processo di ottimizzazione multivariata secondo il piano sperimentale Box-Behnken (BBD). La determinazione analitica di NDL-PCBs è stata condotta mediante gascromatografia accoppiata ad un rilevatore a cattura di elettroni (GC/ECD) e mediante gascromatografia con spettrometro di massa (GC/MS/MS). METODI. In considerazione della lipofilità dei NDL-PCBs e del conseguente accumulo nella componente lipidica dell'alimento, è stata effettuata dapprima l'estrazione e la determinazione del grasso contenuto nella matrice latte mediante Metodo ASE (Accelerated Solvent Extraction) utilizzando una miscela di etere di petrolio:isopropanolo (2:1). Per il processo di estrazione dei 6 congeneri è stata impiegata una miscela di esano:acetone (70:30), seguita da una purificazione con acido solforico concentrato, e successiva purificazione con colonne dedicate e specifiche quali SPE PCB. Ai fini dell'ottimizzazione della metodica, è stato condotto uno studio su un campione di latte bovino con un contenuto lipidico pari al 3,6% variando i seguenti 3 parametri: il rapporto campione/solvente, la percentuale di acetone e il tempo di estrazione. L'ottimizzazione multi-risposta è stata ottenuta utilizzando la funzione di desiderabilità prevista dal BBD. RISULTATI. Lo studio ha coinvolto 13 esperimenti sullo stesso campione di latte, eseguiti in doppio. L'influenza di ciascuna delle 3 variabili e i possibili effetti sulle risposte è stata valutata in termini di recupero e deviazione standard relativa. I valori ottenuti sono stati messi a confronto utilizzando un modello polinomiale e i coefficienti sono stati determinati dalla regressione dei minimi quadrati. I risultati conseguiti hanno evidenziato che le variabili oggetto di studio hanno un impatto statisticamente significativo sull'efficienza dell'estrazione e di conseguenza sulla percentuale di recupero. In conclusione, il metodo ottimizzato è stato validato valutando la linearità, la selettività, il limite di rilevazione e di quantificazione, il recupero, la precisione e la robustezza. I risultati ottenuti hanno confermato la rispondenza del metodo messo a punto a quanto riportato nella norma SANTE/12682/2019. CONCLUSIONI. Il piano sperimentale Box-Behnken è risultato uno strumento valido per ottenere le condizioni migliori di estrazione ai fini della determinazione di NDL-PCBs nella matrice latte mediante tecnica sia GC/ECD che GC/MS/MS. Lo sviluppo di metodi innovativi, rapidi, sensibili ed efficaci, corredati dai dati di validazione, è fondamentale per garantire la sicurezza alimentare e per tutelare la salute del consumatore.

Lavoro svolto grazie ai finanziamenti "Ricerca finalizzata 2020" del Ministero della salute - Progetto IZSPB 08/20 RC.

P06

MONITORAGGIO DI PESTICIDI IN CEREALI E LEGUMI MEDIANTE GC-MS/MS E VALUTAZIONE DEL GRADO DI CONTAMINAZIONE

M. Ingegno¹, V. Nardelli¹, V. D'Amico¹, I. Della Rovere¹,
F. Casamassima¹, A. Calitri¹, M. Iammarino¹, D. Nardiello², M. Quinto^{2,3}

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italy; ²Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimenti, Risorse Naturali e Ingegneria, Università degli Studi di Foggia, Italy; ³Department of Chemistry, Yanbian University, Yanji City, Jilin Province, China

Negli ultimi anni la presenza di pesticidi negli alimenti ha assunto un ruolo fondamentale per l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) tale da indurre la Commissione Europea ad elaborare una corposa e continua revisione della legislazione, che delinea per i pesticidi tutti gli aspetti che vanno dalla commercializzazione alla definizione dei limiti massimi consentiti (LMR). In questo studio di sorveglianza e monitoraggio, campioni di cereali e legumi sono stati analizzati impiegando un metodo multiresiduale, validato ed accreditato, per la determinazione di piretroidi e di pesticidi sia organoclorurati che organofosforati mediante gascromatografia abbinata alla spettrometria di massa (GC/MS/MS). Nel biennio 2018/2019 sono stati prelevati 220 campioni (209 cereali e 11 legumi), provenienti sia dall'Italia che dall'estero. Le determinazioni analitiche hanno riguardato la determinazione di 38 pesticidi, afferenti alle classi piretroidi, organoclorurati ed organofosforati. L'estrazione degli analiti è stata condotta mediante metodo QuEChERS (UNI-EN 15662:2009), mentre l'identificazione/quantificazione mediante GC-MS/MS. Il metodo è stato validato in termini di linearità, precisione, recupero, incertezza e limiti di rivelabilità. A completamento del lavoro, è stata effettuata la valutazione del rischio associato, relativamente ai soli pesticidi quantificati. Nei campioni di legumi non sono stati quantificati residui di pesticidi, mentre in 18 campioni di cereali è stata rilevata la presenza sia di piretroidi quali ciflutrin, cipermetrina, deltametrina, fenvalerato, fenotrina, che di organofosforati quali clorpirifos e pirimifos metile, in concentrazioni più alte dei limiti di quantificazione, ma sempre inferiori al valore di LMR. La percentuale di campioni in cui è stata riscontrata la presenza di residui di pesticidi è stata pari all'8% ed il range di concentrazione è risultato compreso tra 0,011 (ciflutrin) e 0,113 (pirimifos metile) mg/kg. In questo studio è stata effettuata anche la valutazione del rischio associato esaminando per ogni singola matrice il prodotto di trasformazione più rappresentativo e di largo consumo, ossia grano tenero/pane, grano duro/pasta, avena/cereali da colazione. I valori ottenuti sono risultati molto bassi in quanto la percentuale più alta per NOEL e ADI è stata calcolata rispettivamente per il clorpirifos (0,0086%) e per il pirimifos metile nel pane (0,76%). In questo studio, la presenza di alcuni pesticidi è stata riscontrata in campioni di cereali, tuttavia le concentrazioni quantificate sono risultate inferiori rispetto al valore di LMR fissato. La ricerca bibliografica ha confermato che i risultati di questo monitoraggio sono confrontabili con gli studi europei disponibili per quanto riguarda clorpirifos e pirimifos metile, ed extra-europei per quanto riguarda il pirimifos metile. Infine, lo studio sulla valutazione del rischio associato ha permesso di concludere che il pirimifos metile è il pesticida con i più alti livelli di esposizione, derivanti dal consumo di pane, pasta e cereali per la colazione. Tuttavia, le percentuali di esposizione calcolate sono risultate estremamente basse, tali da non rappresentare alcun rischio per il consumatore. I risultati conseguiti evidenziano dunque l'importanza di studi continui per la ricerca ed il monitoraggio di contaminanti quali i pesticidi in alimenti di largo consumo.

P07

IDENTIFICAZIONE DEL TRATTAMENTO RADIANTE IN CANNOLICCHI (*SOLEN MARGINATUS*): CARATTERIZZAZIONE DELLO SPETTRO DI RISONANZA DI SPIN ELETTRONICO

A. Chiappinelli, M. Tomaiuolo, M. Campaniello, M. Iammarino,
M. Nicolini, V. Nardelli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Laboratorio Nazionale di Riferimento per il trattamento degli alimenti e dei loro ingredienti con radiazioni ionizzanti, Foggia, Italy

I cannolicchi (*Solen marginatus*) possono accumulare e concentrare batteri e virus patogeni per via delle loro capacità filtranti. Le malattie infettive collegate al loro consumo costituiscono un serio problema per la salute pubblica in quanto tradizionalmente vengono consumati crudi o poco cotti; dunque è opportuno ove necessario, sottoporli a depurazione o ad un trattamento di sterilizzazione. L'utilizzo di radiazioni ionizzanti risulta essere una tecnologia efficace per l'inattivazione di virus e batteri, in grado anche di aumentarne la shelf life. Il trattamento di matrici alimentari con radiazioni ionizzanti causa la formazione di radicali. In assenza di un metodo analitico ufficiale per l'identificazione dell'irraggiamento nei cannolicchi, questo lavoro si propone di identificare il trattamento radiante mediante la tecnica della risonanza di spin elettronico (ESR), in grado di rilevare i radicali, specie paramagnetiche contenenti uno o più elettroni disaccoppiati. Campioni di cannolicchi interi sono stati irraggiati con un irraggiatore biologico a raggi X a dosi crescenti di 0,2, 0,5, 1, 3, 5 e 7 kGy. La dose impartita al campione è stata misurata mediante il sistema dosimetrico ESR-analina. Al fine di ottimizzare i parametri di acquisizione, sono stati condotti test sui campioni irradiati determinando il setup ottimale dell'ampiezza di modulazione e potenza delle microonde. Per neutralizzare l'effetto anisotropo del campione, i gusci dei cannolicchi separati dalla parte edibile, sono stati polverizzati con l'ausilio di un mulino analitico con lame ad impatto. Un segnale ESR è identificato da un parametro chiamato fattore *g*, indipendente dai parametri strumentali e la cui misura permette di identificare i radicali che lo hanno generato. Per caratterizzare lo spettro ESR, sono stati misurati i fattori *g* di ogni campione, utilizzando un marker di riferimento per correggerne i valori. Infine è stato effettuato un blind test su 10 campioni incogniti comprendenti cannolicchi irradiati e non irradiati. Gli spettri dei cannolicchi non irradiati mostrano un singolo segnale proveniente da radicali presenti in origine nel campione, mentre quelli di cannolicchi irradiati sono più complessi e presentano sovrapposizioni di più segnali, risultando in spettri in cui sono osservabili 7 segnali. L'origine dei segnali rilevati può essere imputata alla presenza di radicali anionici di carbonati e solfiti caratteristici della composizione minerale dei gusci, come ad esempio l'idrossiapatite. Per i segnali osservati sono stati misurati i fattori *g*, assegnati poi ai radicali degli anioni più probabili utilizzando anche le informazioni ricavate dalla letteratura. Nel blind test i 10 campioni sono stati preparati e analizzati da un operatore secondo la procedura messa a punto in fase di caratterizzazione. L'operatore, misurando i fattori *g* presenti nello spettro, ha confermato o meno il trattamento con radiazioni ionizzanti, classificando correttamente tutti i 10 campioni assegnati. Lo studio degli spettri ESR di campioni di cannolicchi irradiati e non irradiati, ha permesso di definire dei marker specifici del trattamento radiante, e, grazie all'applicazione dei protocolli messi a punto si possono identificare correttamente i cannolicchi irradiati già alla dose minima di 0,2 kGy e fino alla dose di 7 kGy.
Lavoro svolto grazie ai finanziamenti "Ricerca finalizzata 2019" del Ministero della salute - Progetto IZSPB RC 01/19.

P08

ANALISI QUANTITATIVA DELLO SPETTRO DI RISONANZA DI SPIN ELETTRONICO DI CANNOLICCHI (*SOLEN MARGINATUS*) IRRAGGIATI CON RAGGI X A BASSA ENERGIA

M. Tomaiuolo, A. Chiappinelli, M. Campaniello, M. Iammarino, M. Nicolini, R. Accettulli, V. Nardelli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Laboratorio Nazionale di Riferimento per il trattamento degli alimenti e dei loro ingredienti con radiazioni ionizzanti, Foggia, Italy

I cannicchi (*Solen marginatus*) possono accumulare e concentrare batteri e virus patogeni per via delle loro capacità filtranti, costituendo un serio problema per la salute pubblica dovuta al loro consumo, specie se crudi o poco cotti. A tale scopo l'utilizzo di radiazioni ionizzanti risulta essere una tecnologia efficace per l'inattivazione di virus e batteri. Il presente lavoro si pone l'obiettivo di studiare da un punto di vista quantitativo il segnale ESR prodotto dai gusci irradiati a seguito della produzione di radicali radioindotti a carico di composti inorganici e organici. I campioni sono stati irraggiati con un irraggiatore a raggi X, tensione anodica di 150 kV e corrente di 45 mA, e la misura della dose è stata effettuata con un sistema dosimetrico ESR-Alanina. I gusci dei campioni sono stati essiccati e polverizzati. L'analisi quantitativa dello spettro ESR è stata effettuata misurando l'ampiezza picco-picco del segnale. I campioni sono stati irradiati a dosi crescenti da 0,2 kGy a 7 kGy e letti fino a 6 mesi dalla data di irraggiamento. Per la stima della dose impartita sono stati applicati due metodi: il metodo della curva di taratura e un metodo innovativo in cui viene confrontato il segnale del campione incognito con quello ottenuto portando di proposito il segnale in zona di saturazione attraverso un opportuno irraggiamento del campione stesso. Lo studio della stabilità del segnale ESR prodotta da campioni irradiati a diverse dosi ha mostrato un'attenuazione del segnale di circa il 20% nel primo mese dopo l'irraggiamento a tutte le dosi studiate. Nei restanti 5 mesi il segnale non ha mostrato ulteriori attenuazioni. Da un punto di vista dosimetrico il segnale prodotto dalla matrice oggetto di studio ha mostrato una crescita non lineare con concavità verso il basso fino ad una dose di 1 kGy. Oltre tale livello di dose la curva raggiunge la saturazione. La stima della dose impartita è stata possibile solo per livelli di dose inferiori al livello di saturazione, testata su 6 campioni irradiati a diverse dosi. Nei casi in cui il valore stimato ha superato il livello di saturazione (1 kGy) l'espressione del risultato è stato "Dose >1 kGy". L'applicazione del metodo, per livelli inferiori alla saturazione, ha prodotto stime con uno scostamento dal valore vero di circa il 10%. Anche nel caso del metodo alternativo messo a punto, la dose impartita è stata testata su 6 campioni irradiati. L'applicazione alla matrice oggetto di studio ha prodotto una stima della dose impartita che si discosta dal valore reale di circa il 20%. L'ampiezza del segnale ESR prodotto dal guscio di cannicchi irradiati ha presentato una buona stabilità nel tempo che consente di effettuare studi quantitativi sul segnale anche diversi mesi dopo l'irraggiamento, con una bassa perdita di informazione (circa il 20% in termini di ampiezza). La presenza di un livello di saturazione del segnale limita l'informazione prodotta dai metodi di stima della dose. L'applicazione di entrambi i metodi proposti ha prodotto risultati soddisfacenti con scostamenti nella quantificazione dell'ordine del 10% per il metodo della curva di taratura e del 20% con il metodo alternativo messo a punto. La disponibilità di due metodi diversi permette di confrontare i risultati ottenuti con due differenti approcci.

Lavoro svolto grazie ai finanziamenti "Ricerca finalizzata 2019" del Ministero della salute - Progetto IZSPB RC 01/19.

P09

METODO EN 1785:2003 PER L'IDENTIFICAZIONE DEL TRATTAMENTO IONIZZANTE DI PRODOTTI PROCESSATI A BASE DI CARNE DI POLLAME: OTTIMIZZAZIONE DELLA PROCEDURA ACCELERATED SOLVENT EXTRACTION

M. Campaniello, R. Zianni, A. Chiappinelli, A. Mentana, V. Nardelli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Laboratorio Nazionale di Riferimento per il trattamento degli alimenti e dei loro ingredienti con radiazioni ionizzanti, Foggia, Italy

Nel mondo i principali casi di tossinfezione alimentare provengono dal consumo di alimenti contaminati da microrganismi patogeni. L'uso di metodi non termici, quali l'irraggiamento, abbattano la carica batterica e aumentano la shelf-life dei prodotti trattati. Il metodo chimico EN 1785:2003 per l'identificazione del trattamento con radiazioni ionizzanti, è basato sulla determinazione di 2-dodecilclobutanone (2-DCB), marker radiolitico che si genera nella frazione lipidica degli alimenti. La procedura analitica prevede estrazione mediante Soxhlet, purificazione del grasso e successiva identificazione in gascromatografia/spettrometria di massa. In questo lavoro è stata ottimizzata l'estrazione lipidica tramite Accelerated Solvent Extraction (ASE) ed in seguito il metodo EN 1785, modificato con estrazione ASE, è stato applicato all'analisi di prodotti processati a base di carne di pollame. Le prove di ottimizzazione del metodo ASE sono state eseguite in doppio su matrice di hamburger di pollo non irraggiato (materia grassa 7.1 g/100 g). Ciascuno dei campioni (1 salsiccia pollo, 1 salsiccia pollo/tacchino, 2 hamburger tacchino), acquistati nei supermercati locali, è stato suddiviso in tre aliquote: una additivata con 2-DCB (concentrazioni tra 5,0 e 120,0 ng/g), una irraggiata a dosi di 0,5, 1, 3 kGy, con irraggiatore a raggi X, una non irraggiata (NI). Le matrici additivate e irraggiate sono state analizzate con metodo EN 1785/ASE e sono stati valutati i seguenti parametri: linearità strumentale, linearità del metodo, livello di dose minimo (MDL), specificità, % di recupero. Per ottimizzare il metodo di estrazione ASE sono stati condotti 4 esperimenti indipendenti, variando tipologia di solvente impiegato (esano o cicloesano), numero di cicli statici (2 o 3) e percentuale di purge (60% o 100%). Impiegando cicloesano, per due cicli e purge del 100% è stato ottenuto il risultato migliore sia in termini di resa gravimetrica del grasso estratto (95%), sia come capacità di recupero del 2-DCB. Successivamente, su standard in solvente e in matrice, e su matrice irraggiata, sono state valutate la linearità strumentale e la linearità del metodo, ottenendo un coefficiente di correlazione lineare $R^2 \geq 0,99$ in tutti i casi. Il valore di MDL, valutato sulle matrici irraggiate, è risultato pari a 0,5 kGy. Inoltre il metodo è risultato specifico poiché in nessuno dei campioni NI è stata rilevata la presenza di 2-DCB. Il recupero del metodo, pari al 67%, è stato valutato su campioni di hamburger di tacchino additivati con 2-DCB alla concentrazione di 40 ng/g. L'estrazione lipidica del metodo EN 1785 è stata modificata impiegando la tecnica ASE che mostra una resa quantitativa della frazione lipidica, un ottimo recupero del 2-DCB, una elevata ripetibilità ed un uso ridotto del solvente. Il metodo studiato è stato applicato per l'analisi dei 2-DCB in prodotti avicoli processati, irraggiati o additivati. I valori dei parametri valutati in validazione sono risultati soddisfacenti. È stato possibile, inoltre, identificare correttamente tutti i campioni NI e irraggiati, a dosi $\geq 0,5$ kGy. In conclusione i risultati dimostrano sia che la tecnica ASE è una valida alternativa del metodo Soxhlet, sia che il metodo EN 1785/ASE è adatto per il controllo ufficiale degli alimenti irraggiati.

Lavoro svolto con il finanziamento della Ricerca corrente IZSPB RC 01/17.

P10

SAGGIO DNA COMET APPLICATO ALL'ANALISI DI PRODOTTI A BASE DI CARNE DI POLLAME: STUDIO DEGLI EFFETTI COMBINATI TEMPERATURA/CONSERVAZIONE E TRATTAMENTO CON RADIAZIONI IONIZZANTI

R. Zianni, M. Campaniello, R. Accettulli, M. Iammarino, V. Nardelli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Laboratorio Nazionale di Riferimento per il trattamento degli alimenti e dei loro ingredienti con radiazioni ionizzanti, Foggia, Italy

Negli ultimi decenni si è assistito ad un crescente consumo di carni avicole e relativi prodotti processati, legato al vantaggioso rapporto tra valore nutritivo e prezzo. *Salmonella*, *Campylobacter* e *Listeria* sono considerati i principali agenti patogeni presenti nella filiera avicola. Il rispetto delle corrette temperature di conservazione, unitamente all'uso di trattamenti fisici, quali l'irraggiamento, risultano efficaci contro la crescita batterica, rallentando il deterioramento degli alimenti e garantendo così il prolungamento della shelf-life. Il quadro normativo europeo sulla food irradiation non è armonizzato con quello dei paesi extraeuropei, pertanto è necessario disporre di mezzi analitici idonei per identificare i prodotti importati che non riportano l'adeguata etichettatura di irraggiamento. Il metodo normato UNI EN 13784:2002 "Saggio Comet DNA per la ricerca di prodotti alimentari irraggiati" è un test di screening idoneo all'analisi di alimenti di origine animale o vegetale basato sull'identificazione dei frammenti di DNA, generati dal trattamento ionizzante. In questo lavoro, il metodo EN 13784 è stato applicato per studiare la possibilità di individuare il trattamento ionizzante in prodotti avicoli processati e congelati. I campioni (1 salsiccia di pollo, 1 salsiccia pollo/tacchino, 2 hamburger tacchino), acquistati nei supermercati locali, sono stati irraggiati a dosi crescenti di 0,5, 1, 3 kGy, mediante irraggiatore a raggi X operante a 150 kV e 45 mA a temperatura ambiente. Un'aliquota di ciascun campione non irraggiata (NI) è stata usata come controllo. I campioni, irraggiati e non, sono stati divisi in 4 aliquote, congelati a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ e successivamente analizzati con il metodo EN 13784, ad intervalli regolari (dopo 7, 15 e 30 giorni). Lo studio delle immagini acquisite ha evidenziato come i campioni NI congelati e conservati fino a 30 giorni hanno mantenuto cellule integre, di dimensioni omogenee e talvolta di forma oblunga. Solo a 30 giorni si presenta una leggera scia di stiramento, in particolare nei campioni di hamburger di tacchino, indice di un principio di degradazione del DNA a causa di processi enzimatici. Gli esperimenti condotti sui campioni irraggiati a dosi comprese tra 0,5 e 3 kGy hanno mostrato un pattern differente alle diverse dosi ma omogeneo, con presenza di comete in tutte le condizioni di conservazione considerate. All'aumentare della dose si può notare una maggiore distanza di migrazione dei frammenti di DNA, in analogia a quanto descritto in letteratura. È importante osservare che, a parità di dose, la scia delle comete rimane costante lungo tutto il tempo di conservazione del campione, consentendo di distinguere i campioni irraggiati fino a 30 giorni dopo il trattamento ionizzante. Il metodo EN 13784 DNA comet assay è un test di screening rapido, sensibile ed economico e adatto per i controlli ufficiali di prodotti processati a base di carne di pollame, congelati e trattati con radiazioni ionizzanti. È stato possibile identificare il danno cellulare dovuto al trattamento radiante fino a 30 giorni dopo il congelamento evidenziando come la bassa temperatura mantenga inalterate le caratteristiche del prodotto.

P11

SICUREZZA IGIENICO-SANITARIA E QUALITÀ DURANTE IL TRASPORTO DEGLI ALIMENTI READY TO EAT: LA LOGISTICA DELLE CONSEGNE DELL'ULTIMO MIGLIOM. Castrica¹, C.M. Balzaretto¹, E. Copelotti¹, G.V. Celano², G. Costantino², V. Terio²

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare "Carlo Cantoni", Università degli Studi di Milano, Lodi; ²Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari, Italy

L'esposizione di prodotti freschi e pronti al consumo (Ready To Eat) a temperature non conformi e tempistiche irregolari sono alla base di una potenziale esposizione al rischio per la salute dei consumatori. L'innovazione tecnologica, con utilizzo di strumenti innovativi di monitoraggio che forniscono dati in tempo reale sulle condizioni di trasporto, aiuta ad elevare i parametri di sicurezza, la qualità dei prodotti acquistati e permette di tracciare i flussi. Lo studio ha avuto i seguenti obiettivi: (i) indagare le attuali tendenze nell'utilizzo del food delivery da parte del consumatore; (ii) studiare i flussi di due aziende leader nella logistica dell'ultimo miglio, (iii) applicare un sistema di monitoraggio che preveda l'impiego di Logmore. Logmore, è un sensore di piccole dimensioni, posizionato nel contenitore isotermico, che rilascia i dati registrati mediante la scansione con smartphone di un QR code. Per l'indagine sui consumatori è stato sviluppato un questionario per ottenere dati riguardanti: il trend sulle ordinazioni di cibo a domicilio; le più comuni irregolarità verificatesi con le consegne; la percezione che un potenziale consumatore può avere delle aziende che utilizzano dispositivi per il monitoraggio delle condizioni di trasporto; l'influenza sugli acquisti di tali tecnologie e la disponibilità a pagare un costo aggiuntivo per questo tipo di servizio. Successivamente, sono state condotte delle interviste alle due aziende operanti nel settore della logistica dell'ultimo miglio per studiarne i flussi, al fine di ottimizzarli includendo l'utilizzo del dispositivo Logmore per il monitoraggio e la rilevazione di parametri ambientali (temperatura, umidità ed esposizione alla luce) durante le consegne; (questa fase è ancora in itinere, a causa dei ritardi dovuti alla pandemia di COVID-19 e per questa ragione è possibile dare evidenza solo di risultati preliminari). I risultati dei 303 questionari compilati hanno mostrato che il 59% dei partecipanti ha aumentato i propri acquisti durante il periodo della pandemia di COVID-19. Il 9% ha riscontrato irregolarità nella consegna, come ad esempio imballaggi danneggiati e alimenti deteriorati o contaminati. Il 94% dei potenziali consumatori ha risposto che l'utilizzo di una tecnologia come Logmore potrebbe aumentare la qualità del prodotto. L'89% dei partecipanti ha affermato che la loro preferenza di acquisto verrebbe positivamente influenzata da aziende che utilizzano sistemi di tracciabilità e monitoraggio durante il trasporto. Infine, il 62% sarebbe disposto a pagare un costo aggiuntivo quantificabile su una scala da 1 a 3 con un valore medio di 1.50. Le interviste e le simulazioni di consegna preliminari effettuate con le aziende, hanno mostrato che l'utilizzo di Logmore migliora gli indici di prestazioni rispetto alla logistica attuale, senza dover effettuare ingenti modifiche alle dinamiche già esistenti, mettendo in evidenza inoltre la facile applicazione. La potenzialità del sistema Logmore è elevata e promettente, come evidenziato dai test preliminari, per il raggiungimento di standard igienico-sanitari, qualitativi e comunicazionali apprezzabili, mentre attraverso la diffusione del questionario è stato possibile profilare le attuali tendenze da parte del consumatore riguardo il food delivery.

P12

DESTINO DI *Listeria innocua* DURANTE IL PROCESSO DI PRODUZIONE DI PROVOLONE STAGIONATO 60 GIORNI

E. Cosciani-Cunico, E. Dalzini, P. Monastero, D. Merigo, P. Daminelli, M.N. Losio

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

SCOPO. Scopo dello studio è stato quello di monitorare la variazione di concentrazione di *Listeria innocua* (Li), come surrogato di *L. monocytogenes*, sperimentalmente inoculata nel latte utilizzato nella produzione di Provolone poi stagionato 60 giorni. La pasta è stata filata con acqua a 62°C o a 68°C. METODI. Il formaggio Provolone è stato ottenuto sperimentalmente. Sono stati raccolti circa 1000 L di latte crudo, la cagliata è stata filata con acqua a due diverse temperature (68°C, processo A e 62°C, processo B). La temperatura della pasta filata è stata misurata durante la messa in stampo. Per ogni processo una parte di latte è stata inoculata con soluzione fisiologica sterile (1%v/v), al fine di ottenere campioni di controllo, per indagare pH e concentrazione di batteri acido lattici (LAB). Un'altra parte è stata inoculata con sospensione batterica (circa 8 Log UFC/mL) di Li (1%v/v), al fine di ottenere i campioni contaminati, per valutare la variazione di concentrazione di Li. Le indagini sono state eseguite in latte, cagliata, pasta filata e formaggio a 60 giorni di stagionatura le repliche sono state tre con una ripetizione (n=3; N=1). RISULTATI. Il valore di pH del latte è stato di 6.73±0.01, la concentrazione di LAB di 3.58±0.01 Log UFC/mL. Le temperature massime rilevate nella cagliata durante la filatura sono state di 60°C (Processo A) e 54°C (Processo B) indicando una differenza di circa 8°C rispetto alla temperatura di settaggio dell'acqua di filatura. Nel processo A i valori di pH sono stati di 4.99±0.04, 5.02±0.01, 5.12±0 e la concentrazione di Lab di 7.7±0.54 Log UFC/g, 6.99±0.44 Log UFC/g, 7.41±0.25 Log UFC/g rispettivamente in cagliata, pasta filata e formaggio. La concentrazione di Li è stata di 5.97±0.16 Log UFC/mL, 4.9±0.07 Log UFC/g, 4.35±0.76 Log UFC/g, <1 Log UFC/g rispettivamente in latte, cagliata, pasta filata e formaggio. Nel processo B i valori di pH sono stati di 5.17±0.05, 5.31±0.05, 5.25±0.02 e la concentrazione di Lab di 7.99±0.07 Log UFC/g, 7.74±0.06 Log UFC/g, 7.37±0.2 Log UFC/g rispettivamente in cagliata, pasta filata e formaggio. La concentrazione di Li è stata di 5.04±0 Log UFC/mL, 4.84±0.39 Log UFC/g, 4.78±0.15 Log UFC/g, 1.3±0.42 Log UFC/g rispettivamente in latte, cagliata, pasta filata e formaggio. CONCLUSIONI. La temperatura di lavorazione della cagliata nei formaggi a latte crudo, svolge tutt'oggi un ruolo importante nell'implementare la sicurezza di questa tipologia di prodotto. Il presente studio ha permesso di osservare la differenza tra la temperatura di settaggio dell'acqua di filatura e quella realmente rilevata nella pasta filata, e di valutarne l'effetto sul comportamento di patogeni come Li che possono derivare dalla materia prima o contaminare il prodotto per cross-contaminazione con l'ambiente di lavorazione o con attrezzi/strumenti contaminati. Lo studio svolto può essere utile ai produttori e alle Autorità Competenti per valutare la sicurezza del formaggio Provolone in funzione del processo produttivo.

P13

ANTIMICROBICO RESISTENZA IN BATTERI LATTICI ISOLATI DA MATRICI CASEARIE

G. Costantino¹, M. Calasso², M. Corrente³, S. Tangorre¹, G.V. Celano¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Sezione di Sicurezza degli Alimenti, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari; ²Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Sezione di Microbiologia degli Alimenti, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari; ³Dipartimento di Medicina Veterinaria, Sezione di Malattie Infettive, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italy

L'antimicrobico resistenza (AMR), il fenomeno per il quale un microrganismo risulta resistente all'attività di un farmaco antimicrobico, rappresenta una delle maggiori minacce per la salute pubblica. La relazione tra impiego di antibiotici, settore zootecnico e sviluppo di AMR nel settore delle produzioni agroalimentari di origine animale, così come il rischio di trasmissione di batteri resistenti all'uomo, rappresentano un importante aspetto della sicurezza alimentare, oggetto di numerose ricerche. Meno conosciuta e documentata è l'entità dell'AMR in batteri lattici (LAB) isolati da latte e derivati lattiero caseari, che necessita di ulteriori approfondimenti. Al fine di generare dati di qualità, comparabili a livello nazionale ed europeo, e di valutare potenziali fonti dell'AMR, in questo progetto è stata avviata un'indagine volta a valutare nella filiera produttiva lattiero casearia la presenza di AMR, con particolare riferimento ai microrganismi LAB isolati da latte crudo bovino e formaggi stagionati. Le attività di campionamento sono state svolte in aziende di produzione primaria e trasformazione pugliesi. Le attività di isolamento, identificazione e tipizzazione dei batteri lattici hanno permesso di sottoporre a screening ceppi appartenenti alle specie *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactococcus garviae*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc citreum*, *Streptococcus pasteurianus* e *Streptococcus lutetiensis*. I test di sensibilità antimicrobica sono stati realizzati in accordo agli standard internazionali secondo il metodo della Concentrazione Minima Inibente ed impiegando ampicillina, vancomicina, gentamicina, kanamicina, streptomina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina e cloramfenicolo. I dati ottenuti, utili per il perfezionamento delle indagini di sorveglianza, hanno evidenziato resistenze multiple a diversi antimicrobici testati. Nel genere *Enterococcus*, alcuni isolati hanno mostrato resistenze multiple a tutti gli antibiotici ad eccezione di vancomicina e cloramfenicolo. Nell'ambito del genere *Lactobacillus*, oltre il 70% dei ceppi è risultato resistente all'ampicillina, vancomicina, gentamicina, kanamicina e streptomina. Oltre il 50% dei ceppi di *Lactococcus* è risultato resistente all'ampicillina, gentamicina, kanamicina e streptomina. Ulteriori informazioni saranno ricavate dal completamento delle analisi relative allo studio, a livello molecolare, dei meccanismi di AMR e degli elementi genetici responsabili dell'acquisizione e della trasmissione di geni di AMR nei LAB oggetto di studio. Per una corretta ed appropriata valutazione del rischio sulle ricadute negative per la salute pubblica, sono in corso ulteriori approfondimenti atti a correlare l'AMR ai diversi livelli produttivi di filiera. In conclusione, i risultati di questo lavoro hanno lo scopo di monitorare i microrganismi resistenti stimandone la circolazione nei prodotti lattiero-caseari del territorio. In aggiunta, l'individuazione di sistemi di gestione degli allevamenti e delle produzioni in grado di contrastare i rischi derivanti dall'AMR può condurre alla valorizzazione di pratiche di allevamento e produzione eco-sostenibili ed efficaci per ottenere alimenti più sicuri.

P14

VARIABILITÀ DELLE CINETICHE DI INATTIVAZIONE DI CEPPI DI *SALMONELLA* SPP: DIFFERENZE CEPPO-DIPENDENTI E DI RECUPERO IN BASE AL MEZZO COLTURALE UTILIZZATO

A. Caproli^{1*}, F. Righi¹, D. Merigo^{1,2}, E. Dalzini^{1,2}, P. Monastero^{1,2}, E. Cosciani-Cunico^{1,2}, M.N. Losio^{1,2}

¹Food Control Division, Food Safety Department, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", Brescia; ²National Reference Centre for Emerging Risks in Food Safety, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", Milan, Italy

SCOPO. *Salmonella* spp. è causa comune di focolai infettivi veicolati da alimenti, ed il trattamento termico rappresenta, ad oggi, uno dei processi più utilizzati per l'inattivazione dei patogeni. Tuttavia, è noto come la termoresistenza possa essere ceppo-dipendente e quindi, lo studio dei parametri di inattivazione risulta essere fondamentale al fine di studiare trattamenti termici efficaci in funzione del "worst case scenario" considerando quindi i valori di termoresistenza maggiori rilevati tra i ceppi. Scopo del presente lavoro è quello di valutare le differenze di termoresistenza tra diversi ceppi di *Salmonella* spp. alla temperatura di 55°C mediante l'utilizzo di due diversi terreni di coltura: a) Hecktoen enteric agar (HEA) terreno selettivo e b) Agar sangue (AS) terreno nutritivo composto da sangue di montone. METODI. Un totale di 8 ceppi di *Salmonella* spp. sono stati testati nel presente lavoro: 3 ceppi di *Salmonella* spp. "wild" precedentemente isolati da matrici lattiero-casearie e 5 ceppi di *Salmonella* spp. "Registart". Tutti i ceppi, conservati a -80°C in brodo Brain Heart Infusion (BHI), sono stati rivitalizzati e diluiti in soluzione fisiologica sterile al fine di ottenere una concentrazione iniziale di circa 7 Log CFU/mL. Ciascuna sospensione è stata sottoposta a trattamento termico in bagnomaria a 55°C per 40 minuti. A intervalli di tempo predefiniti (ogni 4 minuti) è stato eseguito il conteggio delle sospensioni sui terreni di conta HEA e AS. Per ogni ceppo, in ciascun intervallo di campionamento sono state analizzate due repliche e conteggiate su entrambi i terreni. Le prove sono state eseguite due volte. I dati sono stati interpolati utilizzando il software GinaFit Version 1.7 e il modello Geeraerd-Tail, è stato utilizzato per calcolare la velocità di inattivazione specifica (Kmax) e il relativo D-value (tempo di riduzione decimale). RISULTATI. Per ciascun ceppo sono state ottenute 8 curve di inattivazione, che hanno permesso di rilevare un maggiore stress delle cellule quando conteggiate in HEA, con conseguenti velocità di inattivazione superiori (t-student test; p<0.05) rispetto a quelle osservate su terreno arricchito AS. Solo il ceppo ATCC 6994 ha mostrato un recupero non significativamente differente (p>0.05) quando conteggiato nei due differenti terreni. Lo studio della variabilità tra i ceppi (in AS) ha mostrato un ampio range di Kmax da 0.07±0.01 m-1 per il ceppo NCTC 6307 a 0.19±0.09 m-1 per il ceppo ATCC 6994 con conseguenti D-value rispettivamente di 13.82±5.88 e 31.9±4.48 minuti. La maggiore termoresistenza (p<0.05) è stata quindi rilevata per il ceppo NCTC 6703. CONCLUSIONI. Il presente studio mette in evidenza come ceppi di *Salmonella* spp. possano mostrare cinetiche di inattivazione, e quindi termoresistenza, variabili e ceppo-dipendenti, sottolineando quindi l'importanza di caratterizzare questi parametri al fine di ottimizzare i processi di inattivazione termica negli alimenti, al fine di garantire una maggiore sicurezza per il consumatore. Inoltre, tale variabilità, può essere dipendente anche dal mezzo colturale utilizzato per il conteggio dei microrganismi: infatti, se viene utilizzato un terreno di conta selettivo, è possibile conteggiare solo le cellule vive-vitali escludendo quelle stressate, con conseguente quindi sottostima del numero di cellule residue nell'alimento e dei parametri cinetici di inattivazione.

P15

TECNOLOGIA AD OSTACOLI: IMPATTO SUL COMPORTAMENTO DI *SALMONELLA* SPP. IN SALAME-TIPO MILANO CON E SENZA NITRITI

E. Dalzini^{1,2}, D. Merigo^{1,2}, P. Monastero^{1,2}, E. Cosciani-Cunico^{1,2}, A. Caproli², P. Daminelli¹, M.N. Losio^{1,2}

¹National Reference Centre for Emerging Risks in Food Safety, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", Milan; ²Food Control Division, Food Safety Department, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", Brescia, Italy

I salumi italiani sono tradizionalmente prodotti aggiungendo nitrati/nitriti sintetici alla carne; tuttavia, sussistono opinioni controverse sul loro utilizzo, legate per lo più all'incremento della richiesta da parte dei consumatori di prodotti alimentari "naturali". In questo contesto, l'obiettivo dello studio è stato quello di eseguire un *challenge test* al fine di valutare l'inattivazione di *Salmonella* spp. durante il processo di Salame tipo Milano realizzato mediante ricetta tradizionale (nitrati/nitriti sintetici) o senza conservanti. Circa 180 kg di impasto per salame-tipo Milano è stato fornito da un produttore locale suddiviso in 2 differenti lotti: Lotto A, formula base ma senza l'aggiunta di additivi, e Lotto B con Nitrato di Potassio (125 mg/kg) e Nitrito di Sodio (150 mg/kg). I lotti sono stati inoculati separatamente con un mix di 3 ceppi di *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (*Salmonella* spp.) (ATCC® 6994™ e Ss273860 e Ss240807, precedentemente isolati da salumi) per produrre salami contaminati sui quali indagare il comportamento del patogeno, o con soluzione fisiologica sterile per produrre salami di controllo sui quali valutare la composizione merceologica e le principali caratteristiche chimico-fisiche e microbiologiche. Tutte le fasi di processo (insacco, fermentazione, asciugatura e stagionatura di 70 giorni) sono state eseguite presso il Laboratorio di Trasformazioni Sperimentali dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna (IZSLER). A intervalli di tempo definiti (0, 1, 3, 4, 7, 15, 30, 45, 60 e 70 giorni), 3 campioni di salame sono stati prelevati e sottoposti ad analisi. Durante la fase di fermentazione a 22°C, l'incremento della concentrazione di batteri lattici (fino a 8.7 Log UFC/g) ha provocato una rapida acidificazione dell'impasto, con una diminuzione del pH da 5.8±0.1 a 5.0±0.1 (Lotto A) e 4.8±0.1 (Lotto B) entro i primi 3 giorni di produzione, mentre i valori di aw sono diminuiti da 0.97±0.01 nell'impasto, a 0.91±0.01 a fine stagionatura e non sono state riscontrate differenze significative (p>0.05) tra i lotti testati. La concentrazione di *Salmonella* spp. è diminuita in entrambe le condizioni testate, anche se l'inattivazione maggiore (p <0.05) è stata rilevata nei salami prodotti con l'aggiunta di nitrati/nitriti. Le riduzioni osservate sono state di 2.99±0.01 Log UFC/g nel Lotto A e 4.44±0.01 Log UFC/g nel Lotto B. Il presente studio sottolinea l'importanza dell'utilizzo di nitrati/nitriti per ottenere un maggiore margine di sicurezza nei prodotti a base di carne fermentata/stagionata come i Salami Italiani. Tuttavia, la sicurezza di questi prodotti non può escludere il rispetto della "tecnologia a ostacoli" durante il processo, ossia della sequenza di ostacoli durante il processo (come l'utilizzo di colture starter microbiche selezionate, la rapida acidificazione dell'impasto, la riduzione dell'aw durante l'asciugatura e una stagionatura prolungata) che gioca un ruolo fondamentale come combinazione di fattori che possono promuovere l'inattivazione dei patogeni di origine alimentare.

P16

IL BLU COLPISCE ANCORA: RI-EMERGENZA DI PSEUDOMONAS FLUORESCENS CROMOGENI IN PRODOTTI LATTIERO-CASEARI, IDENTIFICAZIONE RAPIDA E CARATTERIZZAZIONE DEI CEPPI PRESENTI IN CASEIFICIO

V. Filipello¹, S. Arnaboldi¹, L. Ragni¹, E. Pavoni¹, G. Finazzi¹, G. Andreoli²

¹Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia edell'Emilia Romagna, Brescia; ²Dipartimento Area Territoriale Lombardia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia, Italy

Negli ultimi due anni (2020-2021) sono aumentati gli episodi di discolorazione blu in prodotti lattiero caseari; fenomeno emergente principalmente nelle mozzarelle negli anni 2010-2014, che ha avuto un forte impatto economico legato principalmente al danno d'immagine. I metodi tradizionali di isolamento e caratterizzazione di *Pseudomonas* spp. richiedono tempi molto lunghi, spesso non compatibili con le esigenze commerciali delle aziende che trasformano il latte. Allo scopo di prevenire ulteriori casi e monitorare la presenza di *P. fluorescens* potenzialmente cromogeni è stato messo a punto un protocollo d'analisi che consenta di identificare in tempi brevi ceppi appartenenti al *P. fluorescens* complex e tipizzarli per avere indicazioni circa la persistenza negli ambienti di lavorazione. Questo workflow è stato testato all'interno di un caseificio con problemi di contaminazioni da *P. fluorescens* cromogeni nel quale sono state messe in atto strategie di mitigazione attraverso il trattamento mirato dell'acqua immessa nello stabilimento. Con cadenza settimanale sono stati testati campioni di acqua raccolti in 8 punti di prelievo dall'acqua in ingresso alle vasche di lavorazione, e il prodotto finito. È inoltre stato testato il latte di cisterna per confronto.

La presenza di batteri appartenenti al *P. fluorescens* complex è stata valutata tramite PCR specifica; a seguito di arricchimento in TSBYE della membrana filtrante per i campioni d'acqua, e con analisi diretta sul prodotto finito omogeneizzato 1:10 con APT. In caso di esito positivo della PCR l'arricchimento o l'omogenato sono stati seminati su PPA, e in caso di crescita di un ceppo compatibile, tipizzati con MLST. Le sequenze di nuova identificazione sono state inviate al database online PubMLST per l'assegnazione dei nuovi Sequence Types (ST). Il sequenziamento del gene *gyrB* ha inoltre consentito l'identificazione di specie. Il caseificio è stato monitorato per 8 settimane (n=64 campioni di acqua, n=8 prodotti finiti, e n=1 campione di latte di cisterna). In PCR, un totale 14/64 campioni di acqua sono risultati contaminati con *P. fluorescens*, con un numero di campioni positivi variabile da 0 a 3 a settimana, il prodotto finito è risultato sempre positivo tranne la settimana 8. La prima settimana è stato possibile isolare *P. fluorescens* da 3 campioni d'acqua e dal prodotto finito, mentre nelle settimane successive è stato possibile arrivare all'isolamento solo per 3 campioni (n=1 prodotto finito; n=2 acqua). Nel latte di cisterna è stato possibile identificare la presenza di tre ceppi appartenenti al *P. fluorescens* complex (*P. fluorescens*, *P. umsongensis*, *P. ludensis*). Per quanto riguarda la caratterizzazione nessuna correlazione è stata identificata fra i ceppi presenti nel latte, nell'acqua, sul prodotto finito, e con ceppi isolati nello stesso stabilimento fra il 2010 e il 2012. Solo un isolato è risultato appartenente a un ST già codificato (ST), mentre gli altri isolati sono risultati ST di nuova designazione. La grande variabilità degli isolati tipizzati suggerisce contaminazioni dovute ad introduzione di ceppi derivanti dall'ambiente esterno, piuttosto che ad un evento di persistenza interno allo stabilimento. La difficoltà di isolamento dal prodotto finito indica che le misure di decontaminazione dell'acqua messe in atto nello stabilimento e il processo di produzione sono efficaci nel neutralizzare le contaminazioni presenti nel latte di massa e nell'acqua in ingresso.

Indice degli autori

Abete, M.C.	14	Cianti, L.	11	Ghidini, S.	5
Accettulli, R.	25,26	Ciccarelli, C.	13,22	Giacometti, F.	10
Acerbis, G.	6	Ciccarelli, E.	13	Giarratana, F.	16,18
Aceto, A.	11	Ciccarese, G.	17	Gilli, M.	16
Ambrosio, R.L.	18	Cincotta, F.	18	Giorelli, F.	17
Anastasio, A.	18	Circella, E.	5	Giuffrida, A.	16
Andreoli, G.	29	Civera, T.	7	Giusti, A.	12
Angellotti, A.	21	Cocca, M.	15	Gogliettino, M.	18
Aponte, M.	9	Colavita, G.	8,15	Griglione, A.	14
Armani, A.	12	Consorti, G.	13	Grispoldi, L.	6
Armellini, A.	17	Conter, M.	5	Guidi, A.	11
Arnaboldi, S.	29	Copelotti, E.	26	Iammarino, M.	14,22,24,25,26
Bacci, C.	2	Corrente, M.	27	Ianieri, A.	5
Balestrieri, M.	18	Coruzzi, E.	16	Ingegno, M.	24
Balzaretti, C.M.	26	Cosciani-Cunico, E.	27,28	Lalinga, G.	3
Barbani, R.	3	Costantino, G.	26,27	Lamberta, F.	16
Bardasi, L.	3	Costanzi, M.	11	Lamperti, L.	2
Barzi, E.	6	Crippa, C.	9	Lanzilli, S.	16
Bazzoni, A.M.	14,15	Cristiano, D.	1,3,11	Lauteri, C.	5
Berardi, G.	14,22	Cuccu, M.	2,8	Leinoudi, M.	13
Bernardi, C.	1,6	D'Alessio, N.	1	Liuzzo, G.	5
Bervini, R.	16	D'Amico, V.	23,24	Livini, F.	21
Biglia, C.	16	D'angelo, C.	19	Longo, E.	12
Blaiotta, G.	9	D'Aurizio, G.	22	Longo, F.	10
Bonardi, S.	2	Dalzini, E.	27,28	Lorello, M.	3
Bonerba, E.	10,19	Dambrosio, A.	17	Lorenzoni, G.	15
Bozzo, G.	5	Daminelli, P.	27,28	Lorusso, P.	19
Branciani, R.	3	De Camillis, A.	17	Losio, M.N.	27,28
Bruatto, G.	16	De Cesare, A.	9	Lucchi, A.	9
Cacace, F.	3	De Luca, S.	5	Luppi, A.	2
Cagnazzo, G.	17	De Santis, E.PL.	2	Mancusi, A.	3
Calasso, M.	27	De Santis, E.PL.	8	Manginelli, T.	6
Calitri, A.	24	de Sena, M.	9	Marchesiello, W.M.V.	23
Camarda, A.	5	Delibato, E.	3	Marilungo, L.	21
Campaniello, M.	24,25,26	Della Rovere, I.	23	Marotta, S.M.	16
Capozza, R.L.	1	Della Rovere, I.	24	Marrone, R.	18
Caproli, A.	28	Demontis, M.	8	Marseglia, C.	14,22
Capuano, F.	11	Di Cesare, F.	10	Melillo, R.	15,21
Carmosino, I.	2	Di Ciccio, P.	7	Meloni, D.	14,15
Carta, N.	2	Di Giacomo, L.	21	Meloni, M.P.	2,8
Casalino, G.	5	Di Pace, E.	15	Mendolicchio, A.	16
Casamassima, F.	23,24	Di Pinto, A.	17	Mentana, A.	25
Casillo, A.	19	Di Taranto, A.	14,22	Mercogliano, R.	8,15
Castagna, M.	21	Di Trani, V.	13	Merialdi, G.	3
Castellano, F.S.	3	Donato, G.	16	Merigo, D.	27,28
Castellano, S.	3	Errico, M.	2	Miraglia, D.	3
Castrica, M.	26	Esposito, G.	14	Mollica, D.	3
Catanese, G.	17	Ferrante, M.C.	8	Monastero, P.	27,28
Cau, S.	15,21	Ferretti, E.	21	Mondo, E.	10
Ceci, E.	5	Ferri, G.	4	Mottola, A.	17
Celano, G.V.	26,27	Ferrucci, L.	11	Mudadu, A.G.	14,15,21
Cenci-Goga, B.T.	6	Festino, A.R.	4,5	Murru, N.	1,9
Ceruso, M.	19	Fichera, S.	21	Najar, B.	12
Chalias, A.	6	Filipello, V.	29	Nalbone, L.	16,18
Chessa, L.	2	Finazzi, G.	29	Nardelli, V.	23,24,25,26
Chiappinelli, A.	24,25	Fois, N.	14,15	Nardiello, D.	23,24
Chiesa, F.	7	Fratini, F.	12	Narducci, R.	12
Chiesa, L.M.	10	Galassi, A.	11	Neri, B.	10
		Gambi, L.	9	Nicolini, M.	24,25
		Gasperetti, L.	12	Nieddu, G.	8
		Gentili, V.	21	Nobile, M.	10

Nuvoloni, R.	12	Quinto, M.	23,24	Soro, B.	15,21
Olivastri, A.	4	Ragni, L.	29	Spanu, C.	21
Osella, E.	16	Ranucci, D.	3	Spanu, V.	2,8
Ossiprandi, M.C.	2	Rapesta, V.	3	Squadrone, S.	14
Paba, A.	2	Rega, M.	2	Stassi, E.	16
Palmieri, G.	18	Riganatou, A.	21	Stella, S.	1,6
Paludi, D.	11	Righi, F.	28	Tangorre, S.	27
Pandiscia, A.	19	Rippa, A.	1	Tantillo, G.	19
Panebianco, A.	18	Rodríguez-López, P.	5	Tedde, T.	15,21
Panebianco, F.	7	Roila, R.	3	Terio, V.	19,26
Panserì, S.	10	Romana, B.	18	Tilocca, M.G.	21
Pasquali, F.	9,21	Romito, D.	5	Timaco, D.	1
Pavlovic, R.	10	Rossi, F.	4	Tinacci, L.	12
Pavoni, E.	29	Rubineti, F.	16	Tirloni, E.	1,6
Pecorari, L.	6	Rubiola, S.	7	Tomaiuolo, M.	24,25
Pederiva, S.	14	Ruggeri, S.	21	Tomasello, F.	10
Pedonese, F.	12	Salza, S.	15,21	Torracca, B.	12
Pennisi, L.	17	Sanna, R.	2,8	Traversa, A.	16
Pepe, T.	19	Santonicola, S.	8,15	Vallone, L.	11
Peruzy, M.F.	1,9	Sartoni, M.	11	Venuti, I.	19
Piccinini, A.	4	Savini, F.	10	Verdigi, F.	12
Piras, F.	2,8	Scarano, C.	2,8	Vergara, A.	4,5
Piras, G.	15,21	Scarpellini, R.	10	Villa, R.	10
Piredda, R.	17	Schiavone, A.	5	Virgilio, S.	15,21
Piva, S.	10	Scotti, L.	11	Vita, V.	14,22
Polese, C.	11	Semeraro, A.M.	13	Vodret, B.	15,21
Poli, L.	5	Serra, S.	14,15	Volgare, M.	15
Pollesel, M.	10	Serraino, A.	10	Zanardi, E.	5
Proroga, Y.T.R.	1,3,11	Siddi, G.	2,8	Zianni, R.	25,26
Quaglia, N.C.	17	Simon, A.C.	5	Ziino, G.	16,18

EDITORIAL STAFF

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

Claudia Castellano, Production Editor
Cristiana Poggi, Production Editor

Tiziano Taccini, Technical Support

PUBLISHED BY

PAGEPress Publications
via A. Cavagna Sangiuliani, 5
27100 Pavia, Italy
T. +39.0382.1549020
F. +39.0382.1727454



www.pagepress.org
info@pagepress.org

Pubblicato: settembre 2021.