



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

XXXI CONVEGNO NAZIONALE A.I.V.I.

Le nuove sfide del Veterinario Igienista tra i pericoli emergenti e il ruolo delle Autorità Competenti nei controlli ufficiali

22-23-24 Settembre 2022

Università degli Studi di Teramo

Aula Magna



I Viaggi di Salomone
Tel. 0805857174
e-mail: eventi@iviaggidisalomone.it
www.iviaggidisalomone.it



CON IL PATROCINIO DI:



I Viaggi di Salomone
Tel. 0805857174
e-mail: eventi@iviaggidisalomone.it
www.iviaggidisalomone.it



Le nuove sfide del Veterinario Igienista tra i pericoli emergenti e il ruolo delle Autorità Competenti nei controlli ufficiali

PRESIDENTE

Aniello Anastasio

SEGRETARIO

Raffaele Marrone

COMITATO SCIENTIFICO

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

Virgilio Sebastiano

Palma Giuseppe

COMITATO ORGANIZZATORE

XXXI CONVEGNO NAZIONALE

Alberto Vergara - *Presidente*

Aniello Anastasio

Adriana Ianieri

Raffaele Marrone

Antonio Paparella

Non-commercial use only

Comunicazioni Orali

■ GIOVEDÌ 22 SETTEMBRE 2022

I SESSIONE CARNE

IL CONTROLLO UFFICIALE NELLE MACELLERIE TRADIZIONALI ED ETNICHE: DALLE EVIDENZE RACCOLTE SPUNTI PER IL MIGLIORAMENTO DELLA SICUREZZA ALIMENTARE	1
G. Bonifacino, A. Traversa, D. Nucera, R. Bervini, G. Bruatto, E. Coruzzi, M. Gilli, A. Mendolicchio, E. Osella, F. Rubinetti, E. Stassi, C. Biglia, T. Civera	
INDAGINE SULLA MORTALITÀ DURANTE IL TRASPORTO DI SUINI SOTTOPOSTI A LUNGI VIAGGI	1
E. Marti, E. Nannoni, G. Visentin, L. Sardi, G. Martelli, G. Liuzzo	
INDICI DI COLORE DELLE CARNI DI CERVO (<i>CERVUS ELAPHUS</i>) IN RELAZIONE AI VALORI DI PH E ALLE BUONE PRATICHE DI GESTIONE	2
R. Viganò, F. Riccardi, E. Demartini, A. Gaviglio, A. Corradini, S. Iametti	
RESISTOMA E VIRULOMA DI BATTERI DI INTERESSE ZOOTONICO ISOLATI DA PRODUZIONI ALIMENTARI ARTIGIANALI DI ORIGINE ANIMALE NELL'AREA DEL MEDITERRANEO	2
F. Pasquali, L. Gambi, A. De Cesare, C. Crippa, V. Cadavez, U. Gonzales-Barron, A. Valero, F. Achemchem, A. Lucchi, A. Parisi, G. Manfreda	
PREVALENZA E PROFILI DI ANTIMICROBICO RESISTENZA IN MICRORGANISMI ISOLATI DA CARCASSE E FECI DI OVINI ALLEVATI NEL PARCO NAZIONALE DELLA MAIELLA	3
G. Ferri, C. Lauteri, A.R. Festino, C. Smoglica, D. Paludi, C.E. Di Francesco, A. Vergara	
LA FILIERA DELLE CARNI BOVINE: IL RUOLO DELLE CHECK LIST IN UN APPROCCIO INTEGRATO DAI CAMPI ALLA TAVOLA	3
C. Lauteri, G. Ferri, D. Pellei, G. Scorzetti, A. Vergara	
ABBATTIMENTO DELLA CARICA MICROBICA IN CELLE DI MATURAZIONE DELLA CARNE TRAMITE FUMIGAZIONE DI ACQUA ELETTRORIZZATA ALCALINA	4
F. Savini, F. Giacometti, A. Serraino, Y.T. Mekonnen, F. Troja, F. Tommasello, V. Indio, A. De Cesare	
SHELF-LIFE DI ARROSTICINI DI PECORA CONFEZIONATI IN ATMOSFERA PROTETTIVA	4
S. Stella, C. Bernardi, M. Fioretti, L. Lorenzini, E. Tirloni	
DATI PRELIMINARI SULL'EVOLUZIONE DEL PROFILO MICROBICO NEL CORSO DELLA FROLLATURA WET E DRY DI TAGLI DI CARNE OTTENUTI DA DIVERSE RAZZE BOVINE IN SARDEGNA	5
M.P. Meloni, F. Piras, G. Siddi, R. Sanna, R. Lai, F. Simbula, D. Cabras, M. Maurichi, G. Asara, E.P.L. De Santis, C. Scarano	

■ VENERDÌ 23 SETTEMBRE 2022

II SESSIONE CARNE

DEFINIZIONE E OTTIMIZZAZIONE DEL PROCESSO PRODUTTIVO TRADIZIONALE E DELLE CARATTERISTICHE SENSORIALI DELLA SALSICCIA SARDA	6
G. Siddi, F. Piras, M.P. Meloni, V. Spanu, N. Carta, M. Cuccu, R. Di Salvo, C. Piga, E.P.L. De Santis, C. Scarano	
PRIME VALUTAZIONI SULLA CONTAMINAZIONE BATTERIOLOGICA DELLA MUSCOLATURA PROFONDA IN CINGHIALI CACCIATI	6
E. Startari, G. Ziino, F. Giarratana, A. Panebianco	
PREVALENZA E PROFILI DI ANTIMICROBICO RESISTENZA IN <i>SALMONELLA</i> SPP. NELLE CARNI AVICOLE	7
G. Butera, C. Piraino, A. Castello, V. Alio, C. Cardamone, G. Oliveri, M.L. Rizzuto, A. Costa	
SARCOCISTOSI DEL SUINO: CASE REPORT DI UNA PARASSITOSI NEGLETTA	7
S. Rubiola, F. Panebianco, P.A. Di Ciccio, M.T. Capucchio, E. Colombino, F. Bordese, E. Giobbio, L. Fioriello, S. Braghin, L. Rossi, F. Chiesa	
RICERCA DI <i>TRICHINELLA</i> SPP. IN BIOPSIE DIAFRAMMATICHE DI CINGHIALI SELVATICI (<i>SUS SCROFA</i>) CACCIATI NEL CENTRO ITALIA	8
A. Piccinini, D. Ronconi, A. De Luca, V. D'Ovidio, G. Ferri, A. Vergara	

I SESSIONE PRODOTTI ITTICI

STUDIO PRELIMINARE SULL'IDENTIFICAZIONE E QUANTIFICAZIONE DI "ITEMS" RICONDUCEBILI A MICROPLASTICHE IN MOLLUSCHI BIVALVI ALLEVATI IN SARDEGNA	8
G. Lorenzoni, A.G. Mudadu, L. Corda, G. Piras, R. Melillo, S. Salza, S. Cau, K. Usai, T. Tedde, B. Vodret, S. Virgilio, D. Meloni	
GLI EFFETTI DELLA DIMENSIONE CAMPIONARIA SUI CONTROLLI UFFICIALI A CAMPIONE: IL CASO STUDIO DELL'ESAME VISIVO PER LA RICERCA DELLE LARVE DI ANISAKIDAE NEI PRODOTTI DELLA PESCA	9
C. Ciccarelli, A.M. Semeraro, M. Leinoudi, V. Di Trani, A. Ciampagna, E. Ciccarelli	
VALIDAZIONE DI UN METODO RAPIDO IN REALTIME PCR PER LA RICERCA DI <i>V. PARAHAEMOLYTICUS</i>, <i>V. CHOLERA</i> E <i>V. VULNIFICUS</i> PATOGENI, IN MOLLUSCHI BIVALVI	9
O. Di Maro, Y.T.R. Proroga, S. Castellano, A. Balestrieri, F. Capuano, E. Arletti, M. Vietina, M. Bizzarri, M.F. Peruzzy, D. Cristiano	
INDAGINE PRELIMINARE SULLA PRESENZA DI MICROPLASTICHE IN MOLLUSCHI BIVALVI COMMERCIALIZZATI IN PUGLIA	10
N.C. Quaglia, F. Capuozzo, E. Ceci, S. Cometa, A. Dipinto, A. Mottola, R. Piredda, A. Dambrosio	
BENESSERE DEI PRODOTTI ITTICI DURANTE L'ABBATTIMENTO: APPLICABILITÀ DEL REGOLAMENTO CE 1099/09	10
R. Mercogliano, D. Dongo	
ANALISI RETROSPETTIVA DI <i>VIBRIO</i> SPP. ISOLATI DA CROSTACEI IN COMMERCIO MEDIANTE MLSA (<i>MULTILOCUS SEQUENCE ANALYSIS</i>)	11
M.S. Rahman, S. Currò, B. Cardazzo, S. Balzan, E. Novelli, G. Caburlotto, A. Manfrin, L. Fasolato	
CORRELAZIONE TRA I PARAMETRI AMBIENTALI E LA CONTAMINAZIONE DA <i>ESCHERICHIA COLI</i> IN MOLLUSCHI BIVALVI UTILIZZANDO UN METODO ANALITICO RAPIDO (MICROTRAC)	11
S. Currò, L. Fasolato, S. Balzan, G. Biziato, F. Paesanti, L. Bargelloni, B. Cardazzo, E. Novelli	
PRODUZIONI ITTICHE SOSTENIBILI DEL LAGO TRASIMENO: CARATTERIZZAZIONE DEL RISCHIO NELLA REFEZIONE SCOLASTICA DELL'INFANZIA E PRIMARIA	12
R. Roila, A. Piersanti, A. Valiani, D. Ranucci, T. Tavoloni, A. Stramenga, F. Griffoni, P. Palombo, R. Franceschini, F. Agnetti, R. Branciarì	
VALUTAZIONE DEL RISCHIO ASSOCIATO AL CONSUMO CALAMARI E TOTANI PROVENIENTI DALL'ALTO ADRIATICO IN FUNZIONE DELLA CONTAMINAZIONE DA METALLI TOSSICI	12
M.O. Varrà, L. Husáková, J. Patočka, A. Ianieri, S. Ghidini, E. Zanardi	

II SESSIONE PRODOTTI ITTICI

I SESSIONE TEMATICHE VARIE

RICERCA E CARATTERIZZAZIONE DI MICROPLASTICHE FIBROSE E FIBRE NATURALI IN SPECIE ITTICHE PELAGICHE E BENTONICHE DI INTERESSE COMMERCIALE	13
S. Santonicola, M. Volgare, E. Di Pace, R. Mercogliano, M. Cocca, G. Raimo, G. Colavita	
IL RUOLO DELL'OSA NELLA VALUTAZIONE DEL PESCATO DI ACQUA DOLCE INFESTATO DA <i>EUSTRONGYLIDES SP.</i>	14
R. Franceschini, D. Ranucci, A. Valiani, R. Roila, F. Agnetti, I. Corti, R. Branciarì	
VENDITA ABUSIVA DI MITILI NELL'AREALE CAMPANO: VALUTAZIONE DEL RISCHIO E NUOVE FRONTIERE PER LA TRACCIABILITÀ NELL'OTTICA ONE HEALTH	14
V. Vuoso, R.L. Ambrosio, Y.T.R. Proroga, M. Della Rotonda, I. Venuti, F. Capuano	
RITROVAMENTO ACCIDENTALE DI UN TETRAODONTIDE (<i>SPHOEROIDES MARMORATUS</i>) ALL'INTERNO DI UNA SEPPIA ACQUISTATA IN PESCHERIA: VALUTAZIONE DEL RISCHIO ASSOCIATO ALLA PRESENZA DI TTX	15
L. Tinacci, A. Giusti, C. Malloggi, F. Galli, S. Dall'Ara, P. Marconi, L. Gasperetti, A. Armani	
UN APPROCCIO NUOVO PER IL SUPERAMENTO DELLA RESISTENZA MICROBICA- NANOMATERIALI PER APPLICAZIONI AGRI-FOOD E VETERINARIA	15
L. Scotti, Y.T.R. Proroga, A. Mancusi, F. Capuano, D. Paludi, C. Lopez Chavez, J.B. Molina-Hernandez, A. Aceto	

PREVALENZA E DISTRIBUZIONE DEI SEROVAR DI SALMONELLA ASSOCIATI PIÙ FREQUENTEMENTE ALL'INFEZIONE UMANA NEGLI ANIMALI DA PRODUZIONE ALIMENTARE E NELLE ACQUE AD USO IRRIGUO	15
M.F. Peruzzy, I. La Tela, M.R. Carullo, S. Ioele, Y.T.R. Proroga, A. Balestrieri, N. Murru	
LA CROMATOGRAFIA IONICA COME TECNICA DI CONFERMA PER LA DETERMINAZIONE DEI POLIFOSFATI NEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE	16
G. Berardi, A. Di Taranto, V. Vita, E. Palomba, G. Rizzi, M. Iammarino	
POTENZIALITÀ DEL PEPTIDE 1018-K6 NEL CONTENIMENTO DELLA DIFFUSIONE DI BATTERI PATOGENI MULTIRESISTENTI ATTRAVERSO GLI ALIMENTI	17
R.L. Ambrosio, A. Anastasio, G. Palmieri, R. Marrone, P.V. Escribá	
VENDING MACHINES: INDAGINI PRELIMINARI SULLA SICUREZZA E LA QUALITÀ DEI PRODOTTI EROGATI IN REGIONE CAMPANIA	17
I. Venuti, T. Muscariello, M. Ceruso, V. Vuoso, C. Vallone, G.B. Varcasia, T. Pepe	

■ SABATO 24 SETTEMBRE 2022

I SESSIONE LATTE E DERIVATI

II SESSIONE TEMATICHE VARIE

GLI OLI ESSENZIALI: CONTROLLO E PREVENZIONE DEL BIOFILM DUAL-SPECIE NELLA FILIERA LATTIERO-CASEARIA	18
F. Maggio, A. Serio, C. Rossi, C. Purgatorio, F. Buccioni, C. Lopez Chavez, A. Paparella	
DETERMINAZIONE DEL FATTORE DI CONCENTRAZIONE DI AFLATOSSINA M1 NEL FORMAGGIO A PARTIRE DA LATTE NATURALMENTE CONTAMINATO	19
L. Gambi, S. Sabatelli, F. Lelli Mami, F. Paterlini, C. Baiguera, L. Uboldi, A. Biancardi, P. Daminelli	
PRESENZA DI RESIDUI DI CLORATO E PERCLORATO IN LATTE CRUDO BOVINO DEGLI ALLEVAMENTI LOMBARDI	19
M. Nobile, R. Pavlovic, G. Mosconi, L. Danesi, S. Panseri, L.M. Chiesa	
EFFETTI DI UN NUOVO SISTEMA DI RAFFREDDAMENTO DURANTE LA FASE DI RASSODAMENTO NELLA PRODUZIONE DI MOZZARELLA DI BUFALA CAMPANA	20
M. Di Paolo, M. De Stefano, G. Polizzi, A. Anastasio, R. Marrone	
LA RIDETERMINAZIONE DELLA SHELF LIFE PRIMARIA DEI PRODOTTI ALIMENTARI. QUALI GARANZIE PER IL CONSUMATORE?	20
M.R. Micheli, L. Carosielli, C. Guarnieri, A. Rosamilia	
RISTORAZIONE CAMPALE NELLE ATTIVITÀ OPERATIVE E ADDESTRATIVE DELL'ARMA DEI CARABINIERI	21
S. Pulze, N. Presti, A. Vergara	
MESSA A PUNTO E VALIDAZIONE DI UN METODO IMMUNOENZIMATICO PER LA DETERMINAZIONE DELLE PENICILLINE NELLE UOVA	21
S. Summa, S. Lo Magro, P. D'Antini, M. Muscarella	
INDAGINE SULLA PERCEZIONE DELLA CULTURA DELLA SICUREZZA ALIMENTARE IN TRE AZIENDE ALIMENTARI TOSCANE	22
F. Marconi, M. Sartoni, R. Nuvoloni, B. Torracca, M. Gagliardi, G. Zappalà, A. Guidi, F. Pedonese	

III SESSIONE TEMATICHE VARIE

ATTIVITÀ DI CONTROLLO DEI REQUISITI IGIENICO-SANITARI NELLA RISTORAZIONE COLLETTIVA DELLA POLIZIA DI STATO	23
N. Presti, S. Pulze, F. Ciciliano, A. Vergara	
STUDIO RETROSPETTIVO DELLA PREVALENZA DI YERSINIA ENTEROCOLITICA IN ALIMENTI PRELEVATI NELLA REGIONE UMBRIA (ITALIA CENTRALE)	23
S. Primavilla, S. Farneti, R. Roila, R. Branciarì, C. Altissimi, A. Valiani, D. Ranucci	

RISCHIO ALIMENTARE ASSOCIATO AL CONSUMO DI VEGETALI, ESPOSIZIONE A CEPPI ANTIMICROBICO-RESISTENTI E PESTICIDI	24
A. Castello, G. Lo Cascio, L. Pantano, A. Costa, G. Butera, G. Oliveri, R. Alduina, C. Ferraro, C. Cardamone	
UTILIZZO DOMESTICO DI SPUGNETTE DA CUCINA: VALUTAZIONE DEL RISCHIO MICROBIOLOGICO ASSOCIATO	24
F. Garofalo, A. De Lella, R. Nappi, A. Anzalone, A. Esposito, L. Biondi, A. Cutarelli, A. Fulgione, D. Nava, A.M.I. Montone	
MONITORAGGIO DEI RESIDUI DI NDL-PCBS IN PRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE DI LARGO CONSUMO MEDIANTE TECNICHE ANALITICHE AD ELEVATA SENSIBILITÀ	25
M. Iammarino, F. Casamassima, A. Calitri, V. D'Amico, I. Della Rovere, M. Ingegno, M. Tomaiuolo, V. Nardelli	
LISTERIA MONOCYTOGENES: FENOMENI DI "PERSISTENZA" E POTENZIALE IMPATTO SULLA SICUREZZA ALIMENTARE	25
L. Nalbone, G. Sorrentino, F. Giarratana, A. Schioppa, G. Ziino, A. Giuffrida	
STUDIO PRELIMINARE SULL'ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE ED ANTIMICROBICA DI DUE MIELI ITALIANI DI ELICRISO (<i>HELICHRYSUM ITALICUM</i>)	26
S. Vitalini, M. Iriti, S. Panseri, A. Zuurro, V. Leoni, L. Vallone	
Sessione Poster	
■ VENERDÌ 23 SETTEMBRE 2022	
APPROCCIO INNOVATIVO PER LA RIVELAZIONE DELL'USO DI ANTIBIOTICI NEI SUINI	27
M.P. Fabrice, A. Caligiani, G.L. Alborali, F. Scali, S. De Luca, V. Lolli, M.O. Varrà, E. Zanardi	
DALLE PROCEDURE DOCUMENTATE ALLE SCHEDE PROCESSO PER LA CORRETTA ESECUZIONE DEI CONTROLLI UFFICIALI AI SENSI DEL REGOLAMENTO UE 2017/625	27
S. Antoci, C. Villani, M. Tardella, G. Di Serafino, G. Parisiani, R. Piccioni	
SVILUPPO E VALIDAZIONE DI UN METODO RAPIDO PER L'IDENTIFICAZIONE DI CARNE SEPARATA MECCANICAMENTE MEDIANTE CROMATOGRAFIA IONICA CON RIVELAZIONE CONDUTTIMETRICA	28
M. Iammarino, O. Miedico, T. D'Amore, G. Berardi, R. Accettulli, R. Dalipi, E. Sangiorgi	
MESSA A PUNTO DI UNA METODICA DI PCR SPECIE SPECIFICA MULTIPLEX PER UNA RAPIDA ED AFFIDABILE IDENTIFICAZIONE DI DNA DI BUFALA, VACCA, PECORA E CAPRA IN PRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE	29
A. Fulgione, A. Anzalone, A. Esposito, L. Biondi, G. Cosenza, D. Nava	
REPORT SULLA PRESENZA DI <i>SALMONELLA SPP.</i> E <i>CAMPYLOBACTER SPP.</i> NELLA CARNE FRESCA COMMERCIALIZZATA IN ITALIA	29
C. Corradini, V. Russini, G. Migliore, B.M. Varcasia, M.L. De Marchis, P. De Santis, S. Lovari, T. Bogdanova, T. Bossù, S. Bilei	
ISPEZIONE DELLE CARNI SUINE ED EFFETTI SULLE PATOLOGIE A MINOR IMPATTO SULLA SALUTE	30
C. Villani, S. Antoci, R. Piccioni	
VALUTAZIONE DELLA PRESENZA DI EPATITE E NEI SUINI MACELLATI NELLA REGIONE SICILIA	30
P. Lorusso, A. Pandiscia, E. Bonerba, G. Bozzo, C. Alfano, M.G. Tantillo, V. Terio	
VALUTAZIONE DELLA FREQUENZA DI LESIONI GASTRICHE IN SUINI PESANTI AL MACELLO E STUDIO DELLA LORO ASSOCIAZIONE CON IL CONSUMO DI FARMACI ANTINFIAMMATORI	30
S. Ghidini, S. De Luca, F. Scali, C. Romeo, F. Guadagno, M.O. Varrà, M. Conter, A. Ianieri, E. Zanardi, G.L. Alborali	
TIMBALLO E MAZZARELLE TERAMANE, RISCHIO TOSSINFEZIONE NELLA RISTORAZIONE COLLETTIVA E DOMESTICA	31
V. Di Egidio, C. Allegretto	
SELVAGGINA CACCIATA E SICUREZZA ALIMENTARE: INDAGINE SU CRITERI DI IGIENE E DI SICUREZZA MICROBIOLOGICA NEL TERRITORIO PIEMONTESE E VALDOSTANO	31
A. Vannuccini, D.M. Bianchi, S. Robetto, E. Carella, D. Adriano, L. Decastelli, R. Orusa	

SIEROTIPI RILEVANTI DI <i>S. ENTERICA</i>: UTILIZZO DELLA SPETTROSCOPIA A INFRAROSSI A TRASFORMATA DI FOURIER (FT-IRS) PER L'IDENTIFICAZIONE RAPIDA IN LABORATORIO	32
L. Ciardelli, R. Girola, M. Pitti, D. Adriano, D.M. Bianchi, M. Cordovana, L. Decastelli	
PRODOTTI A BASE DI CARNE ADDIZIONATI DI ESTRATTI BOTANICI: PROVE SPERIMENTALI PER RICETTE DI SALUMI LIBERI DA NITRITI E NITRATI	32
S. Frizziero, C. Avena, E. Brezzo, I. Ferrocino, J.D. Coisson, F. Zuccon, D.M. Bianchi, L. Decastelli	
STUDIO EPIDEMIOLOGICO DAL 2015 AL 2021 DEI VALORI MEDI DI CARICA BATTERICA SU CARCASSE BOVINE	33
A. Pesce, G. Restaino, A. Marino, M. Nilvetti, D. Coluccino, M. Gaudino, A. Giliberti	
CONTROLLO DELLO SVILUPPO MICROBICO SULLE CARCASSE DI BOVINO MEDIANTE L'IMPIEGO DI UN TESSUTO NON TESSUTO "BACTERIA CATCHER" DOPO LA MACELLAZIONE	34
M. Castrica, C.M. Balzaretto, E. Leprini, L. Budelli, D. Miraglia	
APPROCCIO MOLECOLARE ALLE SARCOsporidiosi DEL CINGHIALE (<i>SUS SCROFA</i>)	34
S. Rubiola, L. Pacifico, G. Faggio, F. Chiesa, M.F. Sgadari, S. Scarcelli, B. Restucci, E. Castaldo, N. D'Alessio, A. Fioretti, A. Gazzonis, A. Anastasio, V. Veneziano	
VALUTAZIONE PRELIMINARE DELLA MICROBIOLOGIA DELLA CARNE BOVINA SOTTOPOSTA A PROLUNGATA MATURAZIONE (DRY AGING)	35
E. Novelli, F. Fontana, S. Balzan, S. Currò, I. Martinato, G. Nana, L. Fasolato	
EFFETTO DELL'AGGIUNTA DI SANSÀ DI MELA FRESCA E LIOFILIZZATA SULLE CARATTERISTICHE IGIENICO-SANITARIE, MERCEOLOGICHE E SENSORIALI DI SALAMI PRODOTTI IN UMBRIA	35
L. Grisoldi, F. Ianni, F. Blasi, L. Pollini, B.T. Cenci-Goga, L. Cossignani	
CONTROLLI UFFICIALI PER LA DETERMINAZIONE DELLE BIOTOSSINE MARINE LIPOSOLUBILI IN MITILI ALLEVATI LUNGO LA COSTA ADRIATICA	36
L. Annunziata, R. Aloia, M. Schirone, G. Scortichini, P. Visciano	
RILEVAMENTO E QUANTIFICAZIONE MEDIANTE DROPLET DIGITAL PCR DI SARS-COV-2 NEI MOLLUSCHI BIVALVI RACCOLTI IN CAMPANIA	36
A. Mancusi, F. Capuano, S. Girardi, O. Di Maro, E. Suffredini, D. Di Concilio, L. Vassallo, M.C. Cuomo, M. Tafuro, D. Signorelli, A. Pierri, A. Pizzolante, P. Cerino, G. La Rosa, Y.T.R. Proroga, B. Pierri	
PRESENZA DI SOSTANZE PERFLUOROALCHILICHE: CONFRONTO TRA PESCI DI MARE E DI LAGO E IMPATTO SULLA SICUREZZA ALIMENTARE	37
G. Mosconi, M. Nobile, S. Panseri, F. Di Cesare, F. Arioli, L.M. Chiesa	
ALLERTA ALIMENTARE DA NITRITI IN TRANCI DI TONNO	37
G. Di Serafino, S. Antoci, G. Scortichini, L. Di Stefano, C. Allegretto, L. Campanelli, S. Centi Pizzutilli, S. Mastropietro, R. Piccioni	
CONTAMINAZIONE DA NOROVIRUS GI E GII IN <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> COMMERCIALIZZATO IN ITALIA	38
F. Righi, E. Galuppini, L. Mangeri, F. Tontarelli, C. Bacci, S. Persichitti, S. Bonardi	
CONFRONTO DEL CONTENUTO PROTEICO E LIPIDICO IN TRE DIFFERENTI RAZZE DI BOVINE DA LATTE	38
M. Schirone, M. Florio, P. Visciano, F. D'Onofrio, A. Ianni, M. Luciani, F. Pomilio, M. Tittarelli, G. Martino	
CARATTERIZZAZIONE MICROBIOLOGICA DI LATTE BOVINO IN ALLEVAMENTI BIOLOGICI E CONVENZIONALI DELLA REGIONE PUGLIA	39
G. Costantino, G. Celano, M. Calasso, S. Tangorre, G.V. Celano	
VALUTAZIONE QUALITATIVA DEL LATTE CRUDO PER LA PRODUZIONE DI LATTE ALIMENTARE	39
E. Tirloni, V. Locatelli, L. Sigala, C. Bernardi, S. Stella	
<i>CLOSTRIDIUM</i> SPP NELLA TRASFORMAZIONE CASEARIA: IDENTIFICAZIONE RAPIDA E SIMULTANEA DI <i>C. TYROBUTYRICUM</i>, <i>C. BUTYRICUM</i> E <i>C. SPOROGENES</i> NEL LATTE	40
I. Floris, A. Romano, G. Marello, F. Martucci, D.M. Bianchi, L. Decastelli	
SPETTROMETRIA DI MASSA AD ALTA RISOLUZIONE APPLICATA ALL'ANALISI LIPIDOMICA DEL FORMAGGIO CAMEMBERT TRATTATO CON RAGGI-X	40
M. Campaniello, A. Mentana, R. Zianni, M. Tomaiuolo, M. Iammarino, V. Nardelli	

VALUTAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ PROTEOLITICA DI MICROORGANISMI POTENZIALMENTE ALTERANTI ISOLATI DA LATTE CRUDO	41
F. Panebianco, C. Caizzone, S. Rubiola, F. Chiesa, P.A. Di Ciccio, T. Civera	
AMICUS MEUS, INIMICUS INIMICI MEI. API, VITICOLTURA E SCAPHOIDEUS TITANUS: UN RAPPORTO DIFFICILE	41
P. Mogliotti, A. Garrone, C. Guasco, R. Possidente, N. Vitale, E. Trabunella, R. Nappi, E. Alesso, B. Rutigliano, F. Brusa	
VALUTAZIONI MICROBIOLOGICHE SULLE SUPERFICI IN VARI SUPERMERCATI DELLA GRANDE DISTRIBUZIONE ORGANIZZATA DEL CENTRO ITALIA	42
P. Visciano, M. Schirone, M. Mazzocchi, G. Scorzetti, L. Giosia, A. Paparella	
ANALISI DELL'INTERO PROTEOMA DI UN CEPPLO DI <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> ESPOSTO A DIFFERENTI FATTORI DI STRESS	42
F. D'Onofrio, M. Luciani, P. Visciano, L. Iannetti, F. Pomilio, M. Tittarelli, A. Paparella, M. Schirone	
VALUTAZIONE DI UN METODO ALTERNATIVO PER LA DETECTION DI ORGANISMI GENETICAMENTE MODIFICATI (OGM)	43
B. Cioffi, A. Esposito, Y.T.R. Proroga, F. Capuano, E. Arletti, M. Vietina, O. Di Maro	
FOOD DELIVERY E SICUREZZA ALIMENTARE: INDAGINE NELLA CITTÀ DI PISA	43
R. Nuvoloni, F. Cavallaro, F. Marconi, F. Pedonese	
VALUTAZIONE DELL'EFFETTO DEL CONFEZIONAMENTO IN ATP SUL PROFILO MICROBIOLOGICO E SULL'ESTENSIONE DELLA SHELF-LIFE DEI CONVENIENCE FOOD DISTRIBUITI NEGLI SMART FOOD LOCKERS	44
M. Castrica, F. Stefano, C.M. Balzaretto	
AZIONE COMBINATA DI OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DI PATOGENI DI INTERESSE ZONOSICO	44
F. Buccioni, A. Serio, F. Maggio, C. Rossi, C. Purgatorio, C. Lopez Chavez, A. Paparella	
VALIDAZIONE DI UN METODO ANALITICO DI CONFERMA IN GC/MS/MS PER LA DETERMINAZIONE DI PESTICIDI IN CAMPIONI DI UOVA	45
V. Nardelli, F. Casamassima, A. Calitri, V. D'Amico, I. Della Rovere, M. Ingegno, M. Iammarino	
LA RISTORAZIONE PUBBLICA NELLA PENISOLA SORRENTINA AI TEMPI DELLA PANDEMIA COVID-19	45
E. Tufarelli, F. Cacace, D. Mollica	
QUALITÀ MICROBIOLOGICA E NUTRIZIONALE DEI PASTI CONSUMATI SUL LUOGO DI LAVORO: UN'INDAGINE IZSPLV	46
C. Ferraris, D.M. Bianchi, C. Maurella, W. Martelli, M. Fornasiero, P.C. Durelli, A. Pezzana, L. Decastelli	
CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> ISOLATI DA MATRICI ALIMENTARI E DA FONTI UMANE	46
A. Costa, A. Gattuso, A. Giammanco, M. Torresi, V. Alio, G. Butera, T. Fasciana, A. Castello, C. Cardamone, F. Pomilio	

Le nuove sfide del Veterinario Igienista tra i pericoli emergenti e il ruolo delle Autorità Competenti nei controlli ufficiali

Teramo 22-23-24 Settembre 2022



COMUNICAZIONI ORALI

Giovedì 22 settembre 2022

I Sessione CARNE

C01

IL CONTROLLO UFFICIALE NELLE MACELLERIE TRADIZIONALI ED ETNICHE: DALLE EVIDENZE RACCOLTE SPUNTI PER IL MIGLIORAMENTO DELLA SICUREZZA ALIMENTARE

G. Bonifacino¹, A. Traversa², D. Nucera³, R. Bervini², G. Bruatto², E. Coruzzi², M. Gilli², A. Mendolichio², E. Osella², F. Rubineti², E. Stassi², C. Biglia², T. Civera¹

¹Dipartimento di scienze veterinarie, Università di Torino, Torino; ²ASL Città di Torino, Dipartimento della prevenzione, S.C. veterinaria B, Torino; ³Dipartimento di scienze agrarie, forestali e alimentari, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO), Italy

Dall'applicazione del Regolamento UE/625/2017, che consente e incoraggia l'utilizzo di regimi di rating da parte degli Stati membri quale mezzo per accrescere la trasparenza nella filiera agroalimentare, nasce un'esigenza di maggior equità, coerenza, trasparenza e obiettività dei controlli ufficiali. Il lavoro confronta i risultati dell'attività ispettiva in merito all'applicazione dei principi di igiene degli alimenti in macellerie etniche e tradizionali nel torinese. Sono stati considerati 50 esercizi di vendita (25 coppie composte da una macelleria tradizionale e una etnica) selezionate casualmente tra le realtà oggetto di accertamento da parte dell'ASL da gennaio a giugno 2019. La suddivisione in coppie è avvenuta applicando un criterio di distanza chilometrica al fine di contenere confondenti dovuti a differenze del contesto sociale. Tra gli obiettivi c'è da un lato l'acquisizione di evidenze di formazione e consapevolezza del ruolo rivestito dagli Operatori del settore alimentare (OSA) e dall'altro il confronto degli atti formulati dall'Autorità competente (AC) per valutarne la completezza sotto il profilo formale e l'unità sotto il profilo sostanziale. Sono stati considerati i seguenti requisiti: documentali (autorizzazione sanitaria o titolo equivalente, piano di autocontrollo) gestionali (monitoraggio della temperatura operata in autocontrollo e in sede di controllo ufficiale, gestione dei sottoprodotti di origine animale (SOA), gestione delle contaminazioni crociate in fase di stoccaggio/esposizione) e strutturali, non conformi-

tà riscontrate e provvedimenti adottati dall'AC. L'analisi statistica dei dati appaiati (eseguita con il test di McNemar) evidenzia, per le macellerie etniche, un'associazione statisticamente significativa in termini di non conformità per igiene del personale e delle lavorazioni e gestione dei SOA e una tendenza alla significatività per le condizioni di pulizia e sanificazione dei locali e la correttezza delle informazioni contenute nel piano di autocontrollo. Per gli esercizi etnici emergono difficoltà legate a fattori culturali e di comprensione della lingua italiana. Le deviazioni gestionali e operative dalla normativa vigente sono rilevate in entrambe le realtà. L'OSA spesso non consapevole della responsabilità attribuitagli ex lege si avvale, per il soddisfacimento dei requisiti documentali e gestionali, di consulenti esterni. Questi ultimi, qualora ben preparati, potrebbero contribuire con l'AC alla messa in norma nei tempi attesi. L'analisi dei verbali, attualmente costituiti da uno spazio completamente libero in cui l'AC riporta i risultati del controllo, ha fatto emergere una disomogeneità, operatore dipendente, nell'attribuzione di importanza ai singoli aspetti verificati. Ciò accade nonostante siano svolti regolarmente all'interno del servizio incontri formativi, specifici per le tipologie di realtà, al fine di incrementare l'uniformità. Questo obiettivo particolarmente complesso rappresenta, comunque, uno strumento fondamentale nell'ottica della divulgazione delle informazioni necessarie in tema di organizzazione, esecuzione e raggiungimento dei risultati dei controlli ufficiali. Per soddisfare quanto sopra narrato si propone, a conclusione del lavoro, di sostituire l'attuale verbale con una check-list semiaperta in grado di indirizzare il Veterinario ispettore verso criteri comuni pur consentendo di mantenere la propria autonomia riportando ogni ulteriore evidenza nei campi lasciati liberi.

C02

INDAGINE SULLA MORTALITÀ DURANTE IL TRASPORTO DI SUINI SOTTOPOSTI A LUNGI VIAGGI

E. Marti¹, E. Nannoni², G. Visentin², L. Sardi², G. Martelli², G. Liuzzo³

¹Agenzia di tutela della salute ATS Milano città metropolitana; ²Università degli Studi di Bologna, Dipartimento di scienze mediche veterinarie; ³Azienda unità sanitaria locale di Modena, Italy

L'Italia rappresenta un importante crocevia per il commercio di bestiame in ambito europeo. Sulla base della letteratura scientifica, il benessere dei suini durante il trasporto dipende da molteplici fattori. Ad oggi, soprattutto in Europa, sono scarsi gli studi che hanno analizzato le implicazioni sul benessere animale e le perdite economiche, espressi in termini di mortalità al trasporto, dei suini che compiono lunghi viaggi. Il presente studio ha analizzato i dati raccolti dai

registri di macellazione e dai giornali di viaggio resi disponibili dai Servizi Veterinari dell'Azienda Unità Sanitaria Locale di Modena che operano all'interno di uno stabilimento di macellazione di suini. L'obiettivo è stato ricavare l'indice di mortalità e i possibili fattori di rischio negli animali che giungono al macello dopo aver compiuto lunghi viaggi. L'analisi ha previsto un'indagine retrospettiva sui trasporti arrivati allo stabilimento nel periodo fra gennaio 2018 e febbraio 2021 e aventi provenienza estera, per un totale di 59.982 suini (370 partite). È stata esplorata la relazione fra la mortalità riscontrata allo scarico e le seguenti variabili: paese di provenienza, durata del viaggio, stagione astronomica, densità di carico, numero di soste e problemi riscontrati durante il viaggio (ovvero presenza di soste di durata superiore ai 60 minuti). Nel complesso, la bassa percentuale di mortalità che è emersa (0,09%) è in linea con quanto riportato nel contesto europeo. I risultati mostrano inoltre che i fattori di rischio che mostrano un effetto significativo sulla mortalità al trasporto risultano essere la stagione ($P=0,0472$, con mortalità più elevata in primavera) e la presenza di lunghe soste durante il viaggio ($P=0,069$, effetto tendenziale). Questo è il primo lavoro scientifico in cui la presenza di soste prolungate, verosimilmente legate a problemi di traffico o al mezzo di trasporto, viene presa in considerazione come possibile fattore di rischio durante i lunghi viaggi e mostra un effetto rilevante. Non mostrano invece un effetto statisticamente significativo la durata del viaggio, la densità di carico, il paese di provenienza, il numero di soste. Tuttavia, i risultati ottenuti relativamente a questi ultimi fattori di rischio offrono ulteriori spunti di riflessione sul tema confermando alcune evidenze già riportate nella letteratura scientifica. Il presente elaborato fornisce una base per suggerire un approfondimento della valutazione degli esiti del trasporto in termini di mortalità, nell'ottica di favorire e semplificare i controlli ufficiali orientati al benessere animale, tenuto conto che il monitoraggio potrebbe essere effettuato analizzando i dati di trasporto e macellazione che vengono raccolti di routine dai Servizi Veterinari Pubblici.

C03

INDICI DI COLORE DELLE CARNI DI CERVO (*CERVUS ELAPHUS*) IN RELAZIONE AI VALORI DI PH E ALLE BUONE PRATICHE DI GESTIONE

R. Viganò^{1,2}, F. Riccardi³, E. Demartini⁴, A. Gaviglio⁴, A. Corradini⁴, S. Iametti³

¹Ars.Uni.VCO, Domodossola (VB); ²Studio associato AlpVet, Busto Arsizio (VA); ³DeFENS, Dipartimento di scienze per gli alimenti, la nutrizione e l'ambiente, Università degli Studi di Milano, Milano; ⁴DIVAS, Dipartimento di medicina veterinaria e scienze animali, Università degli Studi di Milano, Lodi, Italy

L'incremento demografico delle popolazioni di ungulati selvatici negli ultimi anni ha fatto emergere la necessità di gestire la presenza faunistica permettendo un utilizzo sostenibile delle carni di selvaggina, quale risorsa naturale rinnovabile. In tale contesto si è sviluppato il Progetto Filiera Eco-Alimentare, volto a garantire lo sviluppo di un processo produttivo che possa assicurare un approccio sostenibile nei confronti della bio-risorsa fauna e allo stesso tempo possa portare ad un miglioramento della qualità delle carni da selvaggina cacciata attraverso il rispetto del benessere animale, adeguate garanzie sanitarie e un'opportuna valorizzazione del prodotto mediante lo sviluppo di una filiera tracciata. Considerando che l'attenzione del consumatore è spesso indirizzata all'aspetto del prodotto, si è ritenuto opportuno effettuare un'analisi colorimetrica

delle carni di cervo al fine di testare se le variabili di colore siano legate a criticità gestionali e/o all'età del soggetto. Al fine di esplorare e certificare le determinanti di qualità del prodotto "carne da selvaggina cacciata", si è valutata una possibile correlazione tra gli indici colorimetrici di luminosità (L^*), rosso (a^*) e giallo (b^*) ed i valori di pH delle carni a livello del muscolo *semimembranosus*. Tali parametri sono stati correlati con le classi di età, la modalità di abbattimento e dissanguamento, il tempo intercorso tra abbattimento e consegna del capo al centro di verifica e le modalità di trasporto del capo. I dati derivano dagli ungulati prelevati nei Comprensori Alpini VCO2 e VCO3 (Prov. VB) nelle stagioni venatorie 2015/2017, a parte per i dati colorimetrici che riguardano 181 cervi prelevati nell'anno 2017 nel VCO2 e VCO3. L'indagine relativa alla valutazione del pH delle carni si è rilevata fondamentale sia per analizzare i rischi igienico-sanitari connessi alla gestione della carcassa, sia per validare il prodotto finale con un metodo rapido, semplice e oggettivo, nell'ambito della verifica del rispetto delle procedure date dal disciplinare di produzione. Attraverso questo studio è stato inoltre possibile identificare il valore ottimale di pH quale limite discriminante della qualità delle carni di cervo al fine di identificare i capi che possano essere destinati a far parte di una filiera certificata. Le misure colorimetriche mostrano invece che il colore delle carni è correlato all'età dell'animale. I dati relativi all'indice di luminosità sono anche correlati alle procedure di uccisione e alla manipolazione *post-mortem* dell'animale. Per quanto riguarda la qualità del prodotto finale, invece, le misure colorimetriche sul muscolo semimembranoso della coscia hanno rilevato che laddove si abbia un valore di pH inferiore a 5,87, indice di un avvio corretto del processo di frollatura, si hanno carni con valori di luminosità, di indice di rosso e di indice di giallo più elevati rispetto a carni che presentano valori di pH maggiori. L'indagine ha messo in evidenza che la carne di cervo, se ben gestita durante le fasi che vanno dall'abbattimento al sezionamento, non è da categorizzarsi tra le carni "nere". Inoltre, la definizione di strumenti gestionali, applicati ad una corretta formazione del mondo venatorio, può di fatto migliorare la qualità del prodotto anche dal punto di vista sensoriale, rendendola più apprezzata al consumatore finale, contribuendo pertanto anche ad un rilancio di un'economia locale sostenibile.

C04

RESISTOMA E VIRULOMA DI BATTERI DI INTERESSE ZOOTONICO ISOLATI DA PRODUZIONI ALIMENTARI ARTIGIANALI DI ORIGINE ANIMALE NELL'AREA DEL MEDITERRANEO

F. Pasquali¹, L. Gambi¹, A. De Cesare², C. Crippa¹, V. Cadavez³, U. Gonzales-Barron³, A. Valero⁴, F. Achemchem⁵, A. Lucchi¹, A. Parisi⁶, G. Manfreda¹

¹Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Dipartimento di scienze e tecnologie agro-alimentari, Italy; ²Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Dipartimento di scienze mediche veterinarie, Italy; ³Centro de investigação de Montanha (CIMO), escola superior agrária, instituto politécnico de Bragança (IPB), Portugal; ⁴Department of food science and technology, university of Córdoba, Campus Rabanales, Córdoba, Spain; ⁵LASIME Laboratory, Agadir superior school of technology, Ibn Zohr university, Agadir, Morocco; ⁶Istituto zooprofilattico sperimentale della Puglia e della Basilicata, Bari, Italy

Scopo: L'obiettivo della ricerca è stato quello di valutare il profilo dei geni di resistenza e di virulenza di batteri patogeni isolati da alimenti

artigianali di origine animale prodotti in diversi Paesi dell'area Mediterranea. **Metodi:** In totale 118 isolati di batteri zoonotici sono stati sottoposti a sequenziamento genomico tramite piattaforma Illumina ed in particolare 15 *L. monocytogenes* isolate da superfici, impasto e salsiccia provenienti da Spagna e Italia; 16 *S. aureus* da materie e prodotti finiti come formaggio, salame e salsiccia provenienti da Spagna, Italia e Marocco; 13 *Salmonella* spp. provenienti da salsiccia portoghese e marocchina. A questi sono aggiunti 74 isolati di *Klebsiella* spp. ottenuti da campioni italiani di salame, formaggio, e loro ambienti di produzione in quanto potenzialmente responsabili di infezioni nosocomiali. A partire dai dati di sequenziamento si è proceduto alla conferma di identificazione, all'analisi filogenetica dei genomi (MLST in silico e SNP calling) e alla ricerca dei geni di antibiotico resistenza e virulenza. **Risultati:** L'analisi filogenetica ha messo in luce una clusterizzazione di tutti i genomi sequenziati in base all'ST e/o al paese di provenienza. Gli ST8, ST43 e ST121 di *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. e *S. aureus* sono già stati descritti in letteratura come ipervirulenti e/o antibiotico resistenti. Alcuni genomi della stessa specie si differenziavano per un numero ridotto di SNPs suggerendo la permanenza di uno o più cloni all'interno di stesso stabilimento di produzione. L'analisi del profilo di antibiotico resistenza ha identificato geni di resistenza alla fosfomicina in alcuni campioni di *L. monocytogenes* (14) e *Klebsiella* spp. (25); geni *tet* sono stati individuati in *Salmonella* spp. (3), *S. aureus* (4) e *L. monocytogenes* (1). Quest'ultime due specie batteriche hanno mostrato anche geni di resistenza a lincosamide/streptomina (3). *S. aureus* e *Klebsiella* spp. sono gli unici che hanno presentato geni associati alla resistenza ai beta-lattami. Solo *Klebsiella* spp. ha mostrato geni di resistenza ai fluorochinoloni mentre *Salmonella* spp. (14), *K. michiganensis* (8) e *K. pasteurii* (2) hanno presentato geni di resistenza agli aminoglicosidi. L'analisi del profilo di virulenza ha permesso di identificare l'isola di patogenicità 1 in *Listeria monocytogenes*. Gli isolati di *Salmonella* spp., hanno presentato circa 100 geni di virulenza di cui alcuni appartenenti alle isole di patogenicità di *Salmonella* SP1, SP2 e SP3. In tutti genomi di *S. aureus* è stato trovato il gene per l'emolisina ed in tre isolati il gene *seb*, correlato all'enterotossina stafilococcica (2 Spagna, 1 Marocco). I genomi di *Klebsiella* spp. possedevano geni che codificano per l'aerobactina e la yersiniabactina. **Conclusioni:** Tra i 118 isolati, identificati a partire dalle produzioni artigianali mediterranee di alimenti di origine animale (formaggio e salame), i batteri zoonotici isolati hanno mostrato geni di resistenza che includevano 2 classi di antibiotici differenti mentre la specie nosocomiale di *Klebsiella* presentava un profilo di resistenza antibiotica a 4 differenti classi. In tutte e 4 le specie batteriche sequenziate sono stati identificati geni di virulenza presenti anche su diverse isole genomiche. In conclusione, l'analisi genomica rappresenta un utile strumento per la tracciabilità dei ceppi zoonotici e la caratterizzazione dei profili di resistenza antibiotica e virulenza.

C05

PREVALENZA E PROFILI DI ANTIMICROBICO RESISTENZA IN MICRORGANISMI ISOLATI DA CARCASSE E FECI DI OVINI ALLEVATI NEL PARCO NAZIONALE DELLA MAIELLA

G. Ferri¹, C. Lauteri¹, A.R. Festino¹, C. Smoglica², D. Paludi¹, C.E. Di Francesco², A. Vergara¹

¹Facoltà di medicina veterinaria, scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di origine animale "G. Tiecco", Università degli Studi di Teramo; ²Facoltà di medicina veterinaria, unità di ricerca in malattie infettive degli animali domestici, Università degli Studi di Teramo, Italy

Il presente lavoro indaga sulla circolazione dell'antimicrobico resistenza (AMR) in ovini allevati mediante metodo estensivo nel Parco Nazionale della Maiella. Sono state saggiate per la valutazione dei parametri microbiologici n. 15 carcasse e n.15 campioni di feci di animali di età maggiore ai 18 mesi. Sugli isolati si è proceduto ad effettuare l'identificazione e la valutazione della AMR con il sistema in micrometodo automatizzato VITEK 2 (bioMérieux). I ceppi Gram-positivi sono stati saggiati verso n. 31 molecole di antibiotico mediante l'uso delle seguenti card: AST-ST03, AST-P658 e AST-P659; i ceppi Gram-negativi sono stati testati con la card AST-N379 contenente n. 13 molecole di antibiotico. Per tutti i ceppi risultati fenotipicamente multi-resistenti è stato calcolato l'indice di resistenza multipla (MAR index). Lo screening di geni codificanti l'AMR è stato effettuato mediante biologia molecolare qualitativa di specifici target: *blaTEM*, *blaPSE*, *blaKPC*, *blaNDM*, *blaIMP*, *blaOXA-48-like*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *nfsA*, *nfsB*, *sul1*, *sul2*, *sul3*, *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetK*, *tetL*, *tetM*, *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2*, *vanD*, *vanM*, *vanN*. Dalle carcasse sono stati isolati e identificati in totale n. 27 ceppi: 10 Gram-positivi (n. 4 *S. agalactiae*, n. 1 *S. pseudintermedius*, n.1 *S. warneri*, n. 1 *S. hominis*, n. 2 *K. kristinae* e n. 1 *K. rhizophila*) e 17 Gram-negativi (n. 8 *E. coli*, n. 4 *A. hydrocaviae*, n. 2 *A. sobria*, n. 2 *C. braakii*, n. 1 *S. putrefaciens*). Dalle feci sono stati identificati n. 10 *E. coli* e n. 5 *E. faecalis*. Dalle carcasse sono state rilevate nei ceppi Gram-positivi le seguenti resistenze: *Streptococcus* spp. al cefotaxime ed alla tetraciclina (MARindex: 0.2), *Staphylococcus* spp. alla clindamicina, tetraciclina e vancomicina (MARindex: 0.1) e *Kocuria* spp. a clindamicina, nitrofurantoina, tetraciclina e vancomicina (MARindex: 0.15). Il 75% di *Streptococcus* spp. è risultato resistente alla clindamicina. I ceppi Gram-negativi sono risultati sensibili a tutte le molecole testate con l'eccezione di n. 2 *E. coli* (11.76%) risultati resistenti solo al trimetoprim-sulfametossazolo. I ceppi isolati dalle feci sono risultati tutti sensibili alle molecole di antibiotico testate. I geni maggiormente identificati dalle carcasse sono stati: *tetM* e *vanA* (33.33%), *sul2* (29.62%), *ermA* (25.92%), *blaTEM* e *nfsA* (14.81%), *blaOXA-48-like* e *vanN* (11.11%), *tetK*, *tetL* e *vanC1* (7.4%) ed infine *blaIMP*, *ermC*, *tetA*, *tetB* e *vanD* (3.71%). Da n. 2 campioni fecali è stata identificata positività al gene target *sul2* da n. 2 ceppi di *E. coli* fenotipicamente sensibili al trimetoprim-sulfametossazolo. I risultati mostrano una prevalenza maggiore di AMR nelle carcasse rispetto alle feci prese in esame e ciò potrebbe essere legato a contaminazioni ambientali al macello e durante le procedure di manipolazione. Come dimostrato da studi recenti condotti su feci nel Parco Nazionale della Maiella, la circolazione di geni di resistenza è presente sia tra gli animali domestici che tra quelli selvatici che condividono lo stesso ambiente; i dati del presente lavoro confermano tale riscontro. La presenza di profili di resistenza verso molecole di antibiotici classificati come "Critically Important Antimicrobials", inoltre, si configura come una One-Health issue. L'ambiente e le specie animali selvatiche e domestiche hanno un ruolo fondamentale come fonte potenziale di trasmissione per via orizzontale di geni di resistenza per l'uomo attraverso le derrate alimentari.

C06

LA FILIERA DELLE CARNI BOVINE: IL RUOLO DELLE CHECK LIST IN UN APPROCCIO INTEGRATO DAI CAMPI ALLA TAVOLA

C. Lauteri¹, G. Ferri¹, D. Pellei², G. Scorzetti³, A. Vergara¹

¹Facoltà di medicina veterinaria, scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di origine animale "G. Tiecco", Università degli Studi di

Teramo; ²Global Concept S.r.l., San Benedetto del Tronto (AP); ³Magazzini Gabrielli S.p.a., Ascoli Piceno, Italy

La garanzia della sicurezza alimentare richiede interventi lungo tutta la filiera produttiva, basati su un approccio integrato ed in un'ottica multidisciplinare, includendo anche gli aspetti legati al benessere animale e alla sostenibilità ambientale, come preconizzato dai principi del "One Health". Nel presente lavoro è stato valutato il ruolo di check list utilizzate dalla grande distribuzione organizzata (GDO) quale ausilio di garanzia di sicurezza alimentare nella filiera delle carni bovine fresche. Nell'anno 2021 in due distinti sopralluoghi effettuati nel corso di audit di seconda parte, sono stati presi in esame n. 16 allevamenti di scotone da carne nate ed allevate in Italia e n. 2 stabilimenti di macellazione del Nord Est Italia. Durante ciascun sopralluogo si è proceduto al prelievo di campioni ed alla compilazione di check list. Sono stati saggiati un totale di n. 128 campioni (n. 32 campioni di mangime, n. 32 campioni di acqua, n. 32 campioni di urine, n. 32 campioni di fegato) e redatte n. 36 checklist (n. 32 relative al benessere animale negli allevamenti e n. 4 relative al benessere durante la macellazione). Le metodologie analitiche utilizzate, indicate nel piano di autocontrollo e di audit di seconda parte della catena di grande distribuzione organizzata, coincidono con quelle indicate dalla normativa vigente nei controlli ufficiali: PCR quali-quantitativa per la valutazione di OGM nel mangime, metodiche accreditate ISPRA per l'acqua, spettrometria di massa per la rilevazione dei residui di sulfamidici e chinolonici nelle urine in allevamento e beta agonisti fenolici arilamminici e corticosteroidi in fegati al macello. Le checklist sono state redatte secondo le linee guida indicate dal CREMBA. I dati analitici ottenuti dagli esami di laboratorio sono stati incrociati con i rispettivi punti presenti nelle check list. 11 campioni di mangime (34.4%) hanno evidenziato la presenza di Soia Roundup Ready GTS4032(MON 04032 6), 6 (18.8%) hanno rilevato la presenza di Soia MON 87701(MON 877012), 6 (18.8%) di Soia MON89788 (MON 89788 1). La valutazione quantitativa ha rilevato in tutti i casi una presenza inferiore al 0.9%. Le analisi chimico-fisiche dell'acqua hanno rivelato per i parametri saggiati livelli all'interno dei limiti stabiliti dalla vigente Normativa in materia di acqua potabile per consumo umano. Nelle urine non sono stati rilevati sulfamidici e chinolonici residuali ed in 15 fegati (46,9%) sono state riscontrate tracce di cortisolo. Le checklist in allevamento e al macello hanno sempre evidenziato il pieno rispetto del benessere animale. La salute umana, animale ed ambientale sono sistemi interconnessi; per garantire un prodotto salubre, sicuro e genuino occorre pertanto un approccio integrato e multidisciplinare all'interno di tutta la filiera produttiva. Check list adeguatamente implementate ed utilizzate nelle attività di audit di seconda parte e di autocontrollo, unitamente alla storicità dei fornitori, rappresentano un efficace strumento di valutazione del rispetto dei capitolati di acquisto e di sicurezza alimentare per la GDO, in ottemperanza alla normativa cogente ed alle esigenze del consumatore sempre più sensibile ai temi di sostenibilità e ambiente.

C07

ABBATTIMENTO DELLA CARICA MICROBICA IN CELLE DI MATURAZIONE DELLA CARNE TRAMITE FUMIGAZIONE DI ACQUA ELETTROLIZZATA ALCALINA

F. Savini, F. Giacometti, A. Serraino, Y.T. Mekonnen, F. Troja, F. Tommasello, V. Indio, A. De Cesare

Dipartimento di scienze mediche veterinarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Italy

L'obiettivo di questa ricerca è duplice: 1) valutare l'efficacia di acqua elettrolizzata alcalina fumigata all'interno di un maturatore per carne per ridurre la carica microbica patogena sulle superfici interne del maturatore; 2) valutare l'azione delle condizioni ambientali sulle popolazioni microbiche patogene che possono contaminare pareti e superfici del maturatore. Il dry aging è un metodo di maturazione della carne fresca all'interno di armadi refrigerati con il controllo di temperatura, umidità e ventilazione. La letteratura riporta la progressiva riduzione dei microrganismi patogeni sulla superficie della carne, ma non sono presenti dati sul comportamento delle popolazioni patogene eventualmente presenti sulle superfici interne della cella. Sono stati utilizzati l'apparecchiatura Maturmeat[®], l'acqua elettrolizzata alcalina Aquasol e piastre in acciaio inox contaminate con un cocktail di tre differenti ceppi per ciascuna delle seguenti specie batteriche: *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. Sono stati effettuati 3 test: nel primo le piastre sono state sprayzate direttamente con acqua alcalina elettrolizzata, nel secondo e nel terzo le piastre sono state inserite nel Maturmeat[®] per 24 ore con o senza fumigazione di acqua alcalina elettrolizzata all'interno della cella, rispettivamente; la conta batterica sulle piastre è stata misurata prima e dopo ciascun trattamento. Nella prima prova si è evidenziata una riduzione (log UFC/cm²) della conta batterica di 3.70 (±1.35 SD), 3.29 (±1.35 SD), 2.41 (±1.22 SD) e di 1.16 (±0.90 SD) per *Salmonella* spp, *E. coli*, *Listeria* spp, e *S. aureus* rispettivamente. Analogamente la fumigazione all'interno della camera di maturazione ha determinato una riduzione (log UFC/cm²) di 2.85 (±0.38 SD), 3.06 (±0.14 DS), 3.69 (±0.76 SD) e 3.3 (±0.95 SD) per *Salmonella* spp., *E. coli*, *Listeria* spp. e *S. aureus* rispettivamente. Nel terzo test senza nebulizzazione di Aquasol le riduzioni medie registrate sono state 2.65 (±0.82 SD), 3.83 (±0.27 SD), 2.72 (±0.88 SD) e 1.11 (±0.22 SD) log UFC/cm² per *Salmonella* spp., *E. coli*, *Listeria* spp. e *S. aureus* rispettivamente. La riduzione delle conte nelle piastre all'interno del Maturmeat[®] non ha evidenziato differenze significative con o senza la fumigazione dell'acqua elettrolizzata alcalina, questo poiché entrambi i trattamenti hanno determinato, nella quasi totalità dei casi, l'abbattimento totale dei microrganismi inoculati e pertanto non è possibile valutare l'effetto aggiuntivo eventualmente determinato dalla nebulizzazione. I risultati nel loro complesso evidenziano che: i) la sprayzzazione di acqua elettrolizzata alcalina sulle superfici in acciaio inox determina una riduzione delle conte di microrganismi patogeni e indicatori; ii) le condizioni ambientali all'interno del Maturmeat[®] determinano, di per sé, un abbattimento di 1.1- 3.8 log UFC/cm² delle conte di microrganismi patogeni; iii) non è stato possibile determinare l'effetto di abbattimento dovuto alla fumigazione di acqua elettrolizzata alcalina, ma si ritiene che questo tipo di applicazione non sia necessaria in considerazione dei costi aggiuntivi e dell'abbattimento già determinato dalle condizioni ambientali nel maturatore; iv) si conferma l'utilità dell'acqua elettrolizzata alcalina nella pulizia delle attrezzature per la sua azione sgrassante e di abbattimento delle cariche batteriche.

C08

SHELF-LIFE DI ARROSTICINI DI PECORA CONFEZIONATI IN ATMOSFERA PROTETTIVA

S. Stella¹, C. Bernardi¹, M. Fioretti², L. Lorenzini¹, E. Tirloni¹

¹Università degli Studi di Milano, Dipartimento di medicina veterinaria e scienze animali; ²ATS città metropolitana di Milano, Italy

Scopo del presente lavoro è stata la valutazione della shelf-life di arrosticini di pecora prodotti in uno stabilimento lombardo e confezionati in atmosfera protettiva. Il prodotto è stato ottenuto il giorno di produzione; i campioni sono stati suddivisi in due serie e confezionati specifiche concentrazioni di gas: C (convenzionale: 35% O₂/15% CO₂/50% N₂) e S (sperimentale: 30% CO₂/70% N₂). Tutti i campioni sono stati stoccati a 4°C per 10 giorni e sottoposti, dopo 5, 8 e 10 giorni, ad analisi microbiologiche e chimico-fisiche in triplo. Sono stati enumerati i principali parametri microbiologici (Conta Batterica Totale, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., Batteri lattici, Stafilococchi coagulasi positivi, Clostridi solfito riduttori, lieviti e muffe) e ricercate *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Contestualmente sono state effettuate l'analisi colorimetrica e una valutazione qualitativa al momento dell'apertura della confezione (tenuta della confezione, presenza di alterazioni del colore o dell'odore), assegnando un punteggio da 0 (evidente modificazione) a 5 (condizioni ottimali). I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica (test t di Student) allo scopo di valutare le differenze rilevate fra le due serie di campioni. I campioni hanno mostrato valori di Conta Batterica Totale iniziale pari a circa 5 Log UFC/g: tali valori sono aumentati gradualmente durante lo stoccaggio, superando, nella serie C, la soglia di 8 Log UFC/g; valori inferiori di circa 0.5 Log sono stati rilevati nella serie S. Un andamento simile è stato evidenziato per le *Enterobacteriaceae* con cariche iniziali di circa 3 Log UFC/g, che mostravano un incremento raggiungendo a t10 valori superiori a 6 Log CFU/g nella serie C e vicini a 5 Log UFC/g nella serie S (P=0,002). Anche *E. coli* ha mostrato un trend sovrapponibile, pur con valori di circa 1 Log inferiori. *Pseudomonas* spp. ha mostrato cariche iniziali vicine a 4.5 Log UFC/g, con un incremento differente nella serie C (6.5 Log CFU/g a t10) e S (4.95 Log UFC/g) (P=0,006). La maggior crescita nella serie C è stata osservata anche per i batteri lattici, con un incremento da 3 a 5 Log UFC/g (3.8 Log UFC/g nella serie S; P=0,016). Gli altri parametri microbiologici hanno mostrato valori molto contenuti o non rilevabili (<2 Log UFC/g) per l'intero periodo considerato; *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. non sono mai state rilevate. I valori iniziali ottenuti dalla misurazione degli indici colorimetrici si presentano nella norma per questa tipologia di prodotto: risulta però evidente, a partire da t5, la presenza di valori più bassi degli indici a e L nei campioni della serie S, con un evidente ingrigimento dei campioni. I risultati dello score sensoriale indicano una tenuta del prodotto fino a 8 giorni di shelf life nella serie C, mentre l'utilizzo di un'atmosfera priva di ossigeno, pur avendo un effetto debolmente inibente sulle popolazioni microbiche, ha portato ad una modificazione precoce del prodotto (5 giorni di stoccaggio), per la presenza di aree grigie superficiali. Le caratteristiche microbiologiche degli arrosticini dipendono dalle condizioni igieniche di macellazione e di produzione; anche in situazioni ottimali, il prodotto presenta una particolare deperibilità, e richiede una gestione attenta delle temperature e dei tempi di stoccaggio, per mantenerne le caratteristiche di qualità.

C09

DATI PRELIMINARI SULL'EVOLUZIONE DEL PROFILO MICROBICO NEL CORSO DELLA FROLLATURA WET E DRY DI TAGLI DI CARNE OTTENUTI DA DIVERSE RAZZE BOVINE IN SARDEGNA

M.P. Meloni, F. Piras, G. Siddi, R. Sanna, R. Lai, F. Simbula, D. Cabras, M. Maurichi, G. Asara, E.P.L. De Santis, C. Scarano

Dipartimento medicina veterinaria, Università di Sassari, Italy

Scopo del lavoro è stato valutare l'evoluzione del profilo microbico nel corso della frollatura wet e dry di tagli anatomici di carne bovina ottenuti da due vitelloni di razza Sardo-Bruna (SB) e due vacche di razza Frisona (F) macellati presso uno stabilimento del territorio regionale. Presso il macello è stata eseguita la valutazione del peso vivo di ciascun animale, della resa a caldo e a freddo e l'andamento del pH nel corso delle prime 24 ore dopo la macellazione (*longissimus dorsi*). Su tutte le carcasse, prima del raffreddamento, è stata valutata la contaminazione superficiale mediante metodo non distruttivo con determinazione di: conteggio delle colonie aerobiche (CCA), *Enterobacteriaceae*, lattici mesofili (LAB), *Pseudomonas*, Lieviti e Muffe, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*. Presso un laboratorio di sezionamento, da ciascuna mezzena sono stati ottenuti i tagli anatomici di costata e lombata. Per l'applicazione della tecnica dry aging, i tagli ottenuti da una delle mezzene sono stati trasferiti e conservati tal quali in un armadio di stagionatura (T 0-4°C, umidità 75-80%, flusso d'aria 1±0,5 m/s). Per la wet aging, dalla mezzena controlaterale di ciascuna carcassa, i tagli sono stati disossati, confezionati sottovuoto e conservati a T 0-4°C. Nel corso della frollatura con entrambe le metodiche da tutti i tagli sono stati prelevati campioni di carne (25 g) per l'analisi del profilo microbico già descritto. Tutti i campioni ottenuti dai tagli provenienti dalle vacche F sono stati analizzati il giorno del sezionamento (T0) e dopo 7 (T7), 14 (T14) e 21 (T21) giorni di maturazione. I campioni prelevati dai tagli ottenuti dai vitelloni SB, sono stati analizzati anche dopo 28 (T28) e 35 (T35) giorni di maturazione. La resa a caldo è risultata compresa tra il 52 e il 54% per le vacche F e tra il 54 e il 58% per i vitelloni SB, rientrando nel range atteso per queste categorie. La curva di acidificazione nel corso delle prime 24 ore dopo la macellazione ha mostrato un andamento regolare, con il raggiungimento di un pH compreso tra 5,5 e 5,6 a 5 ore dalla macellazione. Contaminazione superficiale delle carcasse: la CCA e le *Enterobacteriaceae* sono risultati contenuti all'interno dei limiti previsti dal Reg. CE n.2073/2005. Anche *Pseudomonas* ha mostrato livelli medi contenuti (< 1 log), mentre LAB, lieviti, muffe e i microrganismi patogeni sono risultati assenti. Dry aging: nei tagli ottenuti dalle vacche F al termine del dry aging (T21) i gruppi microbici hanno mostrato livelli medi particolarmente elevati (~ 9 log) per CCA e *Pseudomonas* ma comunque sovrapponibili a quelli riscontrati da altri autori con la stessa tecnica di maturazione. Livelli medi inferiori sono stati riscontrati per i LAB (6 log) e le *Enterobacteriaceae* (4 log). Sporadico il riscontro di muffe e lieviti. Nei tagli ottenuti dai vitelloni SB al termine del dry aging (T35) sono stati riscontrati valori medi più contenuti (CCA ~6 log, *Pseudomonas* ~ 4 log). Wet aging: nei tagli di carne sottoposti a wet aging i livelli medi sono risultati inferiori rispetto al dry aging e sovrapponibili sia tra le due razze che tra costata e lombata (CCA ~7 log, LAB e *Pseudomonas* ~5 log). Assenti muffe, lieviti e i patogeni. Il consumo della carne frollata in Sardegna è ancora poco diffuso. I dati del presente studio, seppur preliminari, possono servire come base per il successivo sviluppo delle tecniche di maturazione della carne.

Venerdì 23 settembre 2022

II Sessione CARNE

C10

DEFINIZIONE E OTTIMIZZAZIONE DEL PROCESSO PRODUTTIVO TRADIZIONALE E DELLE CARATTERISTICHE SENSORIALI DELLA SALSICCIA SARDA

G. Siddi, F. Piras, M.P. Meloni, V. Spanu, N. Carta, M. Cuccu, R. Di Salvo, C. Piga, E.P.L. De Santis, C. Scarano

Dipartimento medicina veterinaria, Università di Sassari, AGRIS Sardegna, agenzia per la ricerca in agricoltura, Italy

Il progetto di ricerca aveva l'obiettivo di definire il processo di produzione della salsiccia sarda, prodotto a base di carne suina, insaccato, crudo e fermentato, a stagionatura, caratterizzato da un processo tecnologico tradizionale ed estremamente variabile. Inoltre, ci si proponeva di valutare come le fasi di asciugatura e stagionatura, influenzassero la conformità o non conformità ai criteri microbiologici (Reg. 2073/2005), rispetto alla permissività nei confronti di *Listeria monocytogenes*. L'attività sperimentale è stata svolta presso n.8 salumifici della Regione Sardegna nell'ambito del progetto cluster Top Down InTeSaS. Nella prima fase, utilizzando una specifica check list, si è proceduto alla rilevazione delle caratteristiche strutturali, delle tecnologie di processo e dei dati relativi alle materie prime in ingresso (carne, grasso, ecc.). Sono stati inoltre effettuati diversi campionamenti ambientali su superfici a contatto e non a contatto con l'alimento (pavimento cella materie prime, pavimento e canaletta drenaggio sala lavorazione, impastatrice, tavoli sala lavorazione e pavimento cella sgocciolatura) e di prodotto a fine stagionatura (n.48 campioni), pronto per la commercializzazione, su cui sono state effettuate analisi chimico fisiche, microbiologiche e sensoriali. Sono stati determinati il pH (pH meter, GLP 21, Crison®), l' a_w (AquaLab 4 TE®), contenuto % di grasso, umidità e proteine (NIT, FoodScan Lab, FOSS®), mentre sui campioni ambientali e sul prodotto finito si è proceduto alla ricerca di *Listeria monocytogenes* (LM), *Listeria spp.* (L. spp.) secondo norma ISO 11290-1-2/2017 e *Salmonella spp.* (ISO 6579:2017). Il valore di pH rilevato è stato di $5,72 \pm 0,34$ (media \pm DS), mentre il valore di a_w è stato di $0,911 \pm 0,01$ (media \pm DS). In un solo salumificio è stato riscontrato un valore di a_w pari a $0,941 \pm 0,06$ (media \pm DS), permissivo per la crescita del patogeno. Le analisi microbiologiche sul prodotto finito hanno mostrato per 6/8 aziende valori inferiori alla sensibilità del metodo sia per LM che per *Salmonella spp.* Un solo prodotto di un salumificio, è risultato positivo per *Salmonella spp.*, mentre in un'altra azienda 2/3 campioni sono risultati positivi per LM. Le analisi sui campioni ambientali hanno permesso di evidenziare nel 50% dei campioni analizzati positività per L. spp., e nel 20% contemporanea positività per L. spp. e LM. Infine, è stato predisposto un protocollo di analisi sensoriali allo scopo di determinare l'influenza dei processi tecnologici sulle caratteristiche sensoriali delle salsicce. Impiegando un metodo descrittivo-quantitativo (Profilo Sensoriale), eseguito da un panel di giudici esperti, si è inteso caratterizzare e discriminare le salsicce prodotte. I metodi CATA (Check All That Apply) e il test di accettabilità, somministrati ad un panel di consumatori, sono stati impiegati invece rispettiva-

mente per determinare le caratteristiche percepite dai consumatori e per valutare l'indice di gradimento dei prodotti. I risultati ottenuti mostrano come le diverse ricette proposte dai produttori determinino la commercializzazione di prodotti sensorialmente diversi.

C11

PRIME VALUTAZIONI SULLA CONTAMINAZIONE BATTERIOLOGICA DELLA MUSCOLATURA PROFONDA IN CINGHIALI CACCIATI

E. Startari, G. Ziino, F. Giarratana, A. Panebianco

Dipartimento di scienze veterinarie, Università degli Studi di Messina, Italy

A differenza degli animali da macello sani, non stressati, correttamente macellati, la cui muscolatura profonda è da considerare "virtualmente sterile", nei selvatici cacciati, compresi i cinghiali, essa può essere considerata "virtualmente contaminata". Ciò in quanto l'abbattimento con arma da fuoco condiziona il trasferimento lungo il tragitto balistico terminale dei batteri presenti sulla superficie del proiettile unitamente a quelli presenti sugli annessi cutanei, la cute degli animali nonché quelli presenti in organi, cavitari e non, eventualmente coinvolti. Può essere così generata una contaminazione profonda allorché importanti tronchi arteriosi si retraggano rapidamente dopo la recisione causata dal proiettile con potenziale passaggio in circolo dei batteri. Questo tipo di contaminazione è estremamente subdola in quanto non facilmente presumibile e, dunque, controllabile al contrario delle contaminazioni endogene di origine patologica o fisiopatologica, situazioni nelle quali la normativa vigente ne assicura il controllo e il giudizio ispettivo. Detta contaminazione endogena è verosimilmente molto più rara e meno condizionante delle contaminazioni esogene ad oggi maggiormente note ed indagate dovute, ad esempio, alla scarsa igiene durante l'eventuale dissanguamento sul posto, allo scuoiamento e all'eviscerazione. Va comunque tenuto conto del fatto che tali contaminazioni secondarie riguardano, essenzialmente, le superfici della carcassa e che il successivo raggiungimento della muscolatura profonda sarà condizionato dalle operazioni di sezionamento, eventuale confezionamento, rispetto della catena del freddo, ecc.. Scopo del presente lavoro è quello di contribuire alla conoscenza delle contaminazioni profonde della muscolatura di cinghiali selvatici cacciati al fine di accertare eventuali contaminazioni endogene in questa specie che, al momento, risultano scarsamente indagate. L'indagine è stata condotta su 53 cinghiali (*Sus scrofa*) cacciati nella stagione venatoria 2018, nel periodo compreso tra ottobre e dicembre, negli Ambiti Territoriali di Caccia RC1, RC2, VV1, VV2. Per ogni capo abbattuto si raccoglievano informazioni relative a: luogo modalità di abbattimento, comportamento dell'animale durante l'inseguimento, sesso, età approssimativa, peso, numero di colpi inferti, tragitto dei proiettili, lesioni indotte ed eventuali quadri anatomo-patologici. Da ogni esemplare si prelevava il muscolo *Longissimus dorsi* che veniva trasportato in laboratorio a temperatura controllata. Qui venivano prelevati campioni di muscolo profondo per la determinazione delle Enterobacteriaceae (ISO 21528-2:2017), degli Anaerobi solfito riduttori (ISO 15213:2003) e per la ricerca di *Salmonella spp.* (ISO 6579-1:2017). Le colonie cresciute sui diversi terreni venivano selezionate e identificate con sistema MALDI-TOF. Non si è accertato nessun riscontro batteriologico nel 19% (13/53) dei campioni esaminati mentre la presenza di enterobatteri è stata riscontrata nel 75,47% (40/53) dei casi, con valori compresi tra 0.70 e 4.0 log UFC/g. Le specie maggiormente presenti erano *Escherichia coli* e *Hafnia alvei*

seguite da *Citrobacter freundii*, *Pantoea agglomerans* e *Kluyvera intermedia*. Sulla base dei risultati gli autori concludono discutendo sulla reale possibilità di preselezionare capi presumibilmente non interessati da contaminazione endogena attraverso valutazioni anamnestiche e ispettive, compresi i quadri di balistica terminale.

C12

PREVALENZA E PROFILI DI ANTIMICROBICO RESISTENZA IN *SALMONELLA* SPP. NELLE CARNI AVICOLE

G. Butera, C. Piraino, A. Castello, V. Alio, C. Cardamone, G. Oliveri, M.L. Rizzuto, A. Costa

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo, Italy

L'uso eccessivo di antibiotici nel settore veterinario rappresenta un fattore di rischio non trascurabile per la selezione e la trasmissione all'uomo di batteri resistenti veicolati, anche indirettamente, tramite alimenti di origine animale o contaminazione ambientale. In particolare la diffusione di ceppi di *Salmonella* MDR (Multi Drug Resistant) nella filiera avicola, rappresenta un problema sanitario rilevante, soprattutto in un'ottica One Health. Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare la prevalenza e l'antimicrobico resistenza (AMR) di ceppi di *Salmonella* spp. isolati da campioni di carni avicole, esaminati nel triennio 2019-2021. Un totale di 145 carni avicole sono state analizzate secondo la norma ISO 6579-1:2017; i ceppi sono stati identificati mediante saggi biochimico-enzimatici e sierotipizzazione, secondo lo schema Kauffmann - White - Le Minor. Il profilo AMR è stato determinato mediante la metodica Kirby-Bauer, testando 17 antibiotici appartenenti a 6 differenti classi: kanamicina (K, 30µg), gentamicina (CN, 10µg), streptomycin (S, 10µg), tobramicina (TOB, 10µg), ampicillina (AMP, 10µg), amoxicillina/a. clavulanico (AMC, 30µg), cefotaxime (CTX, 30µg), ceftriaxone (CRO, 30µg), ceftazidime (CAZ, 30µg), imipenem (IPM, 10µg), acido nalidixico (NA, 30µg), ciprofloxacina (CIP, 5µg), enrofloxacin (ENR, 5µg), levofloxacin (LEV, 5µg), sulfametoxazolo/trimetoprim (SXT, 25µg), tetraciclina (TE, 30µg) e cloramfenicolo (C, 30µg). Sul totale dei campioni analizzati, sono stati isolati 40 ceppi di *Salmonella* spp. (pari al 28%), di cui 6/45 nel 2019 (13%), 9/41 nel 2020 (22%) e 25/59 nel 2021 (42%). La sierotipizzazione ha evidenziato come predominante *S. Infantis* con 32/40 ceppi isolati, pari all'80%, con un andamento di crescita di prevalenza di questo sierotipo, rispetto agli altri isolati, nel corso del triennio: 67% (4/6) nel 2019, 78% (7/9) nel 2020 e 84% (21/25) nel 2021. Sono stati inoltre rilevati: *S. Kentucky* (10%), *S. Agona* (5%), *S. Typhimurium* (2.5%), *S. Newport* (2.5%). In merito ai profili AMR, 35/40 ceppi isolati sono risultati resistenti ad almeno un antibiotico, con le seguenti percentuali: K 47,5%, CN 5%, NA 72,5%, AMP 67%, TE 72,5%, S 30%, TOB 10%, AMC 15%, CTX 42,5%, CAZ 10%, CRO 25%, LEV 5%, SXT 67,5%; inoltre tutti i ceppi sono risultati sensibili a IMP, CIP ed ENR. Un profilo MDR è stato trovato in 30/40 ceppi (75%), identificati come *S. Infantis*, di cui il 10% hanno mostrato resistenza a n. 3 classi di antibiotici, il 70% verso n. 4 classi di antibiotici e il 30% verso n. 5 classi di antibiotici. I profili MDR più frequenti sono stati: resistenza ai beta-lattamici (con particolare riferimento alle cefalosporine di 3° generazione), fluorochinoloni, sulfamidici e tetracicline. In conclusione, il presente studio conferma la circolazione dell'antimicrobicoresistenza e, soprattutto, della MDR in batteri zoonotici quali *Salmonella* spp. nelle carni avicole rappresentando, come è noto, un rischio emergente nell'approccio olistico One Health. Inoltre si evidenzia la pre-

dominanza, in queste matrici alimentari, di isolamento del sierotipo *S. Infantis*, riconosciuto al quarto posto in Europa come più frequente causa di salmonellosi umana, di cui recenti studi mostrano l'emergenza di cloni MDR, evidenziandone l'importanza del continuo monitoraggio.

C13

SARCOCISTOSI DEL SUINO: CASE REPORT DI UNA PARASSITOSI NEGLETTA

S. Rubiola¹, F. Panebianco¹, P.A. Di Ciccio¹, M.T. Capucchio¹, E. Colombino¹, F. Bordese², E. Giobbio³, L. Fioriello³, S. Braghin³, L. Rossi¹, F. Chiesa¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO); ²ASL Cuneo 1, Dipartimento di Prevenzione, SC Igiene degli Alimenti di Origine Animale, Cuneo; ³ASL Torino 5, SC Sanità Animale, Torino, Italy

La sarcocistosi, o sarcosporidiosi, è una parassitosi negletta causata da parassiti protozoi appartenenti al genere *Sarcocystis*. Tra le oltre 200 specie fino ad oggi riconosciute, almeno due specie utilizzano i suidi come ospiti intermedi, ovvero *Sarcocystis miescheriana*, i cui ospiti definitivi sono i canidi, e *Sarcocystis suihominis*, i cui ospiti definitivi sono gli esseri umani e gli altri primati; il consumo di carne cruda o poco cotta di suidi domestici o selvatici infetti può pertanto costituire un fattore di rischio. Ciò nonostante, i dati relativi alla presenza delle diverse specie di *Sarcocystis* nei suidi in Italia sono scarsi, e limitati ai cinghiali (*Sus scrofa*). Il presente case report riporta il primo caso di sarcocistosi macroscopica generalizzata riscontrato nella carcassa di un suino domestico in Italia. A giugno 2022, la carcassa di una scrofa di 4 anni, ottenuta dall'incrocio di una linea Large White con una Landrace, nata e cresciuta in un allevamento in provincia di Torino e ingrassata gli ultimi 3 mesi in un allevamento in provincia di Cuneo (Piemonte, Italia), è stata sequestrata nel corso della visita post-mortem presso il macello di afferenza. La carcassa presentava lesioni multifocali in forma di cisti macroscopiche lunghe fino a 1 cm e larghe fino a 3 mm all'interno di diaframma, esofago, lingua, muscoli masseteri, muscoli dorsali, muscoli sovraspinato e sottospinato, muscoli dell'avambraccio e del collo. I muscoli interessati sono stati prelevati e le lesioni sono state campionate, fissate in formalina 10% e sottoposte ad esame istologico e osservazione microscopica. Contemporaneamente, 10 lesioni sono state campionate e sottoposte ad estrazione del DNA, amplificazione parziale del gene mitocondriale Citocromo-C Ossidasi 1 (*cox1* mtDNA) e sequenziamento di Sanger; 10 campioni di tessuto muscolare privo di lesioni macroscopiche sono infine stati sottoposti allo stesso protocollo di estrazione del DNA e PCR. Le lesioni tissutali esaminate istologicamente sono risultate ascrivibili a macrocisti da *Sarcocystis* spp. Le cisti macroscopiche si presentavano parzialmente calcificate e circondate da una reazione infiammatoria non suppurativa. L'amplificazione parziale del gene *cox1* mtDNA ha dato esito positivo per tutte le lesioni campionate, e negativo per tutti i campioni di tessuto muscolare sano. Il sequenziamento di Sanger ha confermato la presenza di DNA di *S. miescheriana* in tutte le macrocisti. Il presente studio riporta il primo caso confermato molecularmente di suino domestico affetto da sarcocistosi in Italia, e il primo report che attesta la presenza in un suide di lesioni macroscopiche generalizzate dovute a *S. miescheriana* che comportino la distruzione di una carcassa. Il caso riportato evidenzia la probabile presenza di un difetto

nelle misure di biosicurezza nell'allevamento interessato, e la necessità di ampliare i dati, attualmente scarsi o non pubblicati, sulla presenza di *Sarcocystis* spp. nel suino domestico. Il presente studio dimostra infatti che se, da un lato, *S. suis* rappresenta un rischio zoonosico, ed è quindi di interesse diretto per la sanità pubblica, dall'altro *S. miescheriana* può comportare la comparsa di lesioni che determinano il sequestro e la distruzione della carcassa, con conseguenti perdite economiche per l'allevatore.

C14

RICERCA DI *TRICHINELLA* SPP. IN BIOPSIE DIAFRAMMATICHE DI CINGHIALI SELVATICI (*SUS SCROFA*) CACCIATI NEL CENTRO ITALIA

A. Piccinini¹, D. Ronconi², A. De Luca³, V. D'Ovidio², G. Ferri¹, 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, Unità Operativa Complessa di Igiene della Produzione, Trasformazione, Commercializzazione degli Alimenti di Origine Animale, Dipartimento di Prevenzione, A.S.L. Rieti, Rieti; ³Direzione Sanitaria, A.S.L. Rieti, Rieti, Italy

La trichinellosi è una malattia parassitaria a trasmissione alimentare e diffusione globale causata da nematodi ascritti al gruppo *Trichinella* complex. Nel corso dell'evoluzione, guidati da interazioni ecologiche, selezione naturale e "intelligenza" biochimica, questi parassiti hanno sviluppato mirabili strategie per infettare l'organismo ospite. Una delle più affascinanti è rappresentata dalla formazione della cellula nutrice nel tessuto muscolare (es. diaframma, muscoli scheletrici, muscoli estrinseci dell'occhio, ecc.). Questa strategia ha permesso al parassita di adattarsi e conquistare il più ampio spettro di specie ospiti, inclusi gli ungulati e la specie umana. Il consumo di carne poco cotta proveniente da ungulati selvatici infetti costituisce la più importante fonte di infezione per la specie umana (*Homo sapiens*). In questo studio dimostriamo la prevalenza di *Trichinella* spp. in cinghiali selvatici (*Sus scrofa*) cacciati nel Centro Italia. Durante la stagione venatoria 2021/2022 nella Provincia di Rieti, 554 biopsie diaframmatiche provenienti da cinghiali selvatici sono state campionate per la ricerca di *Trichinella* spp. secondo il Reg. UE 1375/2015. Al fine di rilevare la presenza di forme larvali ascrivibili al genere *Trichinella* spp. è stato utilizzato il metodo della digestione enzimatica con agitatore magnetico. I risultati hanno rivelato una positività dello 0.18% (1/554) e l'identificazione mediante biologia molecolare ha dimostrato la presenza di *Trichinella britovi* nel campione positivo. Questa specie è la più diffusa nelle popolazioni di ungulati selvatici nel Centro Italia e la più frequentemente isolata nei pazienti umani con trichinellosi provenienti da questa area, mostrando una stretta relazione epidemiologica tra *Homo sapiens* e *Sus scrofa* per la diffusione di *Trichinella* spp. in un ecosistema. La sorveglianza epidemiologica, nelle specie animali recettive destinate al consumo umano e ad ogni livello *One Health*, rappresenta la principale strategia "vincente" nel controllo di questa malattia parassitaria a trasmissione alimentare e diffusa su tutto il Pianeta.

I Sessione PRODOTTI ITTICI

C15

STUDIO PRELIMINARE SULL'IDENTIFICAZIONE E QUANTIFICAZIONE DI "ITEMS" RICONDUCEBILI A MICROPLASTICHE IN MOLLUSCHI BIVALVI ALLEVATI IN SARDEGNA

G. Lorenzoni¹, A.G. Mudadu¹, L. Corda², G. Piras¹, R. Melillo¹, S. Salza¹, S. Cau¹, K. Usai¹, T. Tedde¹, B. Vodret¹, S. Virgilio¹, D. Meloni²

¹Istituto zooprofilattico sperimentale della Sardegna, Sassari; ²Università di Sassari, Dipartimento di medicina veterinaria, Sassari, Italy

Le microplastiche (MP) sono frammenti di plastica di dimensioni comprese fra 0,1 e 5 mm, ampiamente presenti nell'ambiente marino. L'ingestione e l'accumulo di MP sono stati dimostrati per diverse specie ittiche. Per questo motivo, le MP possono potenzialmente avere un impatto negativo sulla sicurezza alimentare e sulla salute umana. I molluschi bivalvi sono animali filtratori e possono accumulare MP nei loro tessuti, avendo queste ultime dimensioni simili a quelle del fitoplancton di cui si nutrono. In Sardegna il settore della molluschicoltura è ben consolidato e le specie maggiormente rappresentate sono *Mitylus galloprovincialis*, *Cassostrea gigas* e *Ruditapes decussatus*. Lo scopo del lavoro è stato quello di identificare e quantificare "items" riconducibili a MP riscontrate in molluschi bivalvi allevati in Sardegna, mediante l'utilizzo dello stereomicroscopio. Dal Novembre 2020 al Novembre 2021 è stato analizzato un totale di 76 campioni di molluschi bivalvi, di cui 36 *M. galloprovincialis*, 18 *C. gigas* e 22 *R. decussatus*. I campioni provenivano da allevamenti situati nelle principali aree produttive della Sardegna (Golfo di Olbia, Laguna di Tortoli, Laguna di Santa Gilla e Golfo di Oristano), selezionate sulla base della valutazione del rischio. Gli "items" sono stati recuperati, dopo digestione dei tessuti molli dei molluschi bivalvi, mediante l'utilizzo del KOH al 10%. Il digerito è stato filtrato con una pompa del vuoto con filtri di nitrocellulosa da 5 µm e 47-50 mm di diametro. Dopo asciugatura per 24 ore a T° ambiente, il filtro è stato letto con lo stereomicroscopio. Gli "items" riscontrati sono state classificate in base alla densità espressa come n/g p.e., dove (n) è il numero di oggetti per grammi (g) di parte edibile (p.e.) dei molluschi bivalvi analizzati; gli "items" sono stati classificate in base alla tipologia di forma: a) pellet industriali; b) frammenti; c) pellicole sottili; d) filamenti; e) foam, f) fibre e in base al colore: a) nero, b) blu; c) verde; d) marrone; e) arancio; f) rosa; g) rosso; h) trasparente; i) bianco; l) giallo. Nel 59% dei campioni analizzati sono stati riscontrati "items" riconducibili a MP. La tipologia di "items" che ha mostrato una percentuale maggiore è stata quella dei filamenti (91% ad Olbia, 97% a Tortoli, 94% a S. Gilla e 89% ad Oristano); fibre, foam e frammenti sono stati rilevati in percentuale inferiore. L'analisi del colore degli "items" ha evidenziato una prevalenza del "trasparente" (40% ad Olbia, 44% a S. Gilla e 45% ad Oristano), nella Laguna di Tortoli ha invece prevalso il colore blu con una percentuale del 45% e a seguire il trasparente con il 34%; nelle altre zone il secondo colore riscontrato con maggiore frequenza è stato il blu mentre gli altri colori (nero, rosso, giallo, verde, arancione, bianco e madreperlaceo) hanno mostrato percentuali inferiori. La densità media di "items" più alta (0,60 n/g p.e.) è stata riscontrata nella specie *C. gigas* nel Golfo di Olbia. L'analisi della classe dimensionale degli "items" riscontrate nella

totalità dei campioni analizzati ha indicato che il 100% delle particelle mostravano dimensioni inferiori ai 5 mm. La letteratura sulla valutazione del rischio relative alla presenza di "items" nelle acque marine costiere sarde è limitata ed è quindi auspicabile continuare a indagare la presenza, la natura e il bioaccumulo di "items" nei prodotti ittici, per valutare l'eventuale esposizione umana attraverso il consumo di questi prodotti.

C16

GLI EFFETTI DELLA DIMENSIONE CAMPIONARIA SUI CONTROLLI UFFICIALI A CAMPIONE: IL CASO STUDIO DELL'ESAME VISIVO PER LA RICERCA DELLE LARVE DI ANISAKIDAE NEI PRODOTTI DELLA PESCA

C. Ciccarelli¹, A.M. Semeraro¹, M. Leinoudi², V. Di Trani¹, A. Ciampana³, E. Ciccarelli⁴

¹ASUR Marche Area Vasta 5 San Benedetto del Tronto, Italy; ²Chimico, Thessaloniki, Grecia; ³Veterinario, Teramo; ⁴Biologo, Reading (UK)

La presenza di larve di Anisakidae nei pesci pinnati e cefalopodi, a causa del loro potenziale zoonosico, rappresenta un rilevante argomento di sanità pubblica. Infatti la normativa dell'Unione Europea non consente l'immissione sul mercato di prodotti della pesca manifestamente parassitati e prevede che tali alimenti, se destinati ad essere consumati crudi o sottoposti a trattamenti che non inattivano i nematodi, siano preventivamente sottoposti a congelamento; una eccezione è rappresentata dai pesci che provengono da allevamenti o aree di pesca per le quali sia stato dimostrato, con approvazione dell'Autorità Competente, che non sussistono pericoli sanitari. I controlli in questo campo, compresi quelli ufficiali, sono basati sull'analisi del rischio e vengono eseguiti su campioni rappresentativi mediante esame visivo. Tuttavia l'Unione Europea non ha ancora emanato delle linee guida volte ad uniformare i comportamenti in questo campo, per esempio stabilendo criteri uniformi per definire la dimensione dei campioni e per determinare l'accettabilità delle partite. Questo studio, basato su un modello di tipo probabilistico non dipendente dalle modalità di esecuzione dell'esame, intende mostrare come e quanto la dimensione del campione osservato possa influire sulla significatività dei risultati ottenuti e come questo si rifletta poi sull'uniformità ed omogeneità dei controlli. Per lo studio è stato utilizzato un modello teorico basato sul calcolo combinatorio: assumendo che venga effettuato un corretto campionamento casuale, a partire dalla dimensione della popolazione da osservare e del numero di soggetti parassitati che presumiamo presenti, viene determinata la probabilità di estrarre un campione di soli soggetti non parassitati. Il modello teorico ha permesso di ottenere tre ordini di risultati: 1. costruire curve di probabilità che, per una determinata popolazione oggetto di controllo ed assunto un determinato livello di soggetti parassitati, mostrano come venga a modificarsi la significatività dei risultati ottenuti in funzione della dimensione campionaria; 2. definire tabelle che, in funzione della dimensione della popolazione, della prevalenza dei soggetti parassitati e del livello di significatività che vogliamo raggiungere, riportino la dimensione campionaria minima da testare; 3. valutare la coerenza e la significatività dei controlli così come definiti dalla normativa UE vigente. Fissate le dimensioni della popolazione e del campione, con il modello probabilistico è stato possibile valutare con precisione la relazione che lega le restanti variabili: dimensione campionaria, prevalenza presunta dei soggetti parassitati e significatività del risultato ottenuto. In particolare i

risultati ottenuti hanno mostrato che, se la prevalenza presunta è vicina allo 0, per ottenere risultati significativi il campione deve comprendere un elevatissimo numero dei soggetti della popolazione oggetto di controllo, rendendo così il controllo stesso di difficile attuazione. Tutto ciò mette ancora di più in evidenza come, per garantire controlli ufficiali coerenti ed omogenei in questo campo, sia necessario definire criteri comuni sia per la determinazione della dimensione dei campioni e sia per l'accettazione/respingimento delle partite testate, soprattutto quando deve essere garantito che non sussistono pericoli sanitari.

C17

VALIDAZIONE DI UN METODO RAPIDO IN REALTIME PCR PER LA RICERCA DI *V. PARAHAEMOLYTICUS*, *V. CHOLERA*E *V. VULNIFICUS* PATOGENI, IN MOLLUSCHI BIVALVI

O. Di Maro¹, Y.T.R. Proroga¹, S. Castellano¹, A. Balestrieri¹, F. Capuano¹, E. Arletti², M. Vietina², M. Bizzarri², M.F. Peruzzy³, D. Cristiano¹

¹Istituto zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, Dipartimento coordinamento sicurezza alimentare, Portici (NA); ²Generon S.p.A., San Prospero (MO); ³Dipartimento di medicina veterinaria e produzioni animali, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italy

I forti cambiamenti climatici che, in questi ultimi anni, interessano il pianeta necessitano di una continua e attenta valutazione dei rischi emergenti e riemergenti. L'attuale innalzamento delle temperature e le variazioni dell'ecosistema mare, sono alla base della forte replicazione di alghe tossiche e di specie batteriche che possono avere un forte impatto sulla sicurezza dei prodotti alimentari provenienti dal mare, tra questi assumono un ruolo importante i Vibrio. Le specie più comunemente associate alle infezioni di origine alimentare includono *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e *V. cholerae*. Ad oggi il metodo di riferimento per l'isolamento del Vibrio (ISO 21872-1:2017), prevede diversi passaggi e necessita di circa 4 giorni lavorativi. Scopo del presente studio è stato lo sviluppo di un metodo rapido e innovativo di RealTime PCR triplex per l'identificazione dei soli ceppi patogeni di *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e *V. cholerae* presenti negli alimenti. A tal fine, abbiamo messo a punto, in collaborazione con la ditta Generon SpA, un metodo di detection molecolare di Real Time PCR in triplex. Le sequenze dei primers e delle probe per *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus*, sono indicate nella ISO 21872-1:2017, mentre per *V. cholerae* è stato preso come riferimento lo studio di K. H. Chow et al (2001). La validazione del metodo ha previsto prove la valutazione della sensibilità, specificità e limite di rilevabilità (LOD50) su 60 campioni di *Mytilus galloprovincialis*, già risultati negativi per le Vibrionaceae alla ISO 21872-1:2017. Di questi campioni, 30 sono stati contaminati come indicato nell'Appendice E della ISO 21872-1:2017, i restanti 30 sono stati utilizzati come campioni negativi. Prima dell'estrazione del DNA mediante Chelex (BioRad - Hercules, CA, USA) i campioni sono stati omogenizzati in Alkaline Saline Peptone Water (ASPW - Biolife Italia) e incubati a 37°C per 18h. La RealTime PCR è stata quindi eseguita contestualmente al metodo ISO di riferimento. Si è proceduto al calcolo del LOD50 e alla valutazione dell'accordanza. I risultati ottenuti hanno evidenziato una sensibilità e specificità del 100% per *V. cholerae* e *V. vulnificus*, mentre per *V. parahaemolyticus* la sensibilità è risultata pari al 52% la specificità pari all'89%. Tutti i campioni eseguiti con il metodo ISO 21872-1:2017 hanno confermato l'esito atteso. La concordanza è stata

del 99% per tutti le Vibrionaceae oggetto di studio, invece, il LOD₅₀, calcolato mediante l'utilizzo del foglio di calcolo Limit of Detection Program for Qualitative Microbiology Methods (FDA-2002), è stato di 7.67 ufc/25g per *V. cholerae*, di 0.024 ufc/25g per *V. vulnificus* mentre per *V. parahaemolyticus* è stato di 1.36 ufc/25g. I dati ottenuti evidenziano performance soddisfacenti del metodo rapido sviluppato per *V. cholerae* e *V. vulnificus*, dove le prestazioni ottenute risultano superiori a quelle della validazione primaria della Norma ISO 21872-1:2017. Diversamente, per *V. parahaemolyticus*, la sensibilità e la specificità risultano non pienamente soddisfacenti e richiedono da parte del laboratorio un ulteriore approfondimento.

C18

INDAGINE PRELIMINARE SULLA PRESENZA DI MICROPLASTICHE IN MOLLUSCHI BIVALVI COMMERCIALIZZATI IN PUGLIA

N.C. Quaglia¹, F. Capuzzo¹, E. Ceci¹, S. Cometa², A. Dipinto¹, A. Mottola¹, R. Piredda¹, A. Dambrosio¹

¹Dipartimento di medicina veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari; ²Jaber Innovation S.r.l., Roma, Italy

Il massivo inquinamento dell'ambiente marino da rifiuti plastici causa una significativa ingestione di microplastiche (MP) da parte degli organismi marini. Tra questi, i molluschi bivalvi, in grado di filtrare grandi quantità di acqua di mare, sono particolarmente soggetti all'assorbimento e all'accumulo di MP, configurandosi come un problema emergente di sicurezza alimentare. Lo scopo di questo studio è stato quello di rilevare la presenza di MP in campioni prelevati dal commercio di *Mytilus galloprovincialis* e *Crassostrea gigas*. Sono stati analizzati 3 campioni di cozze (Zona FAO 37.2) e 3 di ostriche (Zona FAO 27.8) acquistati presso peschierie della regione Puglia. Per ciascun campione sono state effettuate tre repliche. La digestione della matrice organica è stata ottenuta con H₂O₂ al 30% (rapporto 1:20 p/v). I campioni di cozze sono stati messi a digerire per 24 ore a 65°C e, successivamente per 24/48 ore a temperatura ambiente, mentre i campioni di ostriche a 60°C per 48 ore. Il protocollo utilizzato per le cozze prevedeva uno step di flottazione, attraverso l'impiego di una soluzione sovrasatura di NaCl (1,2 g ml⁻¹). Il surnatante è stato filtrato con filtri a membrana (5 µm) successivamente osservati allo stereomicroscopio per il rilievo, la conta e la classificazione morfologica, cromatica e dimensionale delle MP. L'identificazione chimica è stata effettuata con l'analisi AFTIR-ATR. Ad ogni campionamento è stato predisposto un campione procedurale in bianco di controllo per la valutazione della contaminazione aero-dispersa. Tutti i campioni di *Mytilus galloprovincialis* e *Crassostrea gigas* esaminati, sono risultati positivi per la presenza di detriti plastici. Complessivamente sono state rilevate 789 MP nei campioni di cozze e 270 MP in quelli di ostriche. Il valore medio delle tre ripetizioni è di 1,25± 0,65 MP/g (peso umido) e 4,53± 2,1 MP/individuo nei campioni di cozze, e di 0,56±0,19 MP/g (peso umido) e 15±3,5 MP/individuo nei campioni di ostriche. Alla valutazione morfo metrica è stata riscontrata la prevalenza di frammenti di colore blu, con l'incidenza più alta nella classe di dimensioni comprese tra 5 e 500 µm. L'analisi AFTIR-ATR ha restituito spettri con correlation scores tra 70 e 80, riconducibili a polimeri sintetici quali poliammidi (33,3%) e nylon (16,7%) per i campioni di cozze e polipropilene (50%) per i campioni di ostriche. I risultati ottenuti, seppur preliminari, si inseriscono in un emergente

filone di ricerca a supporto dell'ipotesi secondo la quale l'inquinamento dell'ambiente marino da rifiuti plastici ha, come conseguenza, un importante impatto sulle specie marine d'interesse commerciale. Il rilievo di numerose MP nei molluschi bivalvi presenti al commercio è particolarmente significativo in quanto, il loro consumo, rappresenta un'ulteriore fonte di esposizione per l'uomo, configurandosi come un potenziale rischio per la nostra salute. Il ritrovamento di poliammide, nylon e polipropilene è con ogni probabilità correlato alla degradazione delle strutture degli impianti di allevamento, ma soprattutto, ad una non corretta gestione dei rifiuti plastici abbandonati in mare. Per una corretta valutazione del rischio correlata al consumo di alimenti contaminati da MP, è necessario concentrare le ricerche future sull'implementazione di protocolli standardizzati che consentano di ottenere risultati più omogenei e sul controllo delle MP lungo la catena alimentare.

C19

BENESSERE DEI PRODOTTI ITTICI DURANTE L'ABBATTIMENTO: APPLICABILITÀ DEL REGOLAMENTO CE 1099/09

R. Mercogliano¹, D. Dongo²

¹Dipartimento di medicina veterinaria e produzione animale, Università degli Studi Federico II di Napoli; ²Wiise srl società benefit, Italy

Con il Trattato di Amsterdam il protocollo 33 ha fissato i principali ambiti d'azione del benessere animale nell'Unione. L'articolo 13 del Trattato di Lisbona del 2007 ha definito la tutela dell'animale come essere senziente. Le specie ittiche presentano differenze fisiologiche sostanziali rispetto agli animali terrestri. Sono macellate e abbattute in un contesto molto diverso e alcune delle pratiche cui sono esposte durante l'abbattimento, tra cui l'ebollizione e lo shock osmotico, possono causare sofferenze evitabili. Scopo del lavoro è evidenziare come sia estremamente limitata, rispetto ai mammiferi terrestri, l'applicabilità delle prescrizioni del Regolamento CE 1099/09 in tema di benessere durante l'abbattimento di molluschi cefalopodi e crostacei. Si commenta il concetto di benessere dei prodotti ittici durante l'abbattimento descrivendo le attuali evidenze scientifiche sulla senienza di specie ittiche destinate al consumo. Sperimentalmente esposti a stimoli nocivi, pesci d'allevamento mostrano risposte fisiologiche, come l'aumento del tasso di ventilazione delle branchie, e comportamentali come riduzione della nutrizione, minore comportamento anti predatorio e ridotta elusione di oggetti sconosciuti. Crostacei e molluschi rispondono a principali criteri di sensibilità dolorifica e capacità cognitiva (Tabella 1) e possiedono nocicettori specializzati per la rilevazione di stimoli nocivi inviati al telencefalo deputato a una funzione cerebrale integrativa. Ci sono significative evidenze che le principali specie ittiche destinate al consumo umano possiedono complessi substrati neurologici che supportano la presenza di sensibilità dolorifica ed esperienze coscienti. Tuttavia la ricerca sullo stordimento e l'abbattimento è molto meno avanzata rispetto alle altre specie terrestri. Per le specie ittiche, la maggiore criticità nell'applicazione delle prescrizioni del Reg. CE 1099/09 è l'assenza di parametri di riferimento applicabili alla fisiologia e alle modalità di abbattimento, a differenza di una maggiore varietà di riferimenti analoghi applicati alle specie da reddito terrestri. Durante l'abbattimento, sarebbe opportuno stabilire norme distinte di protezione dei prodotti ittici che includano le attuali evidenze scientifiche. Eludere la problematica del benessere dei prodotti ittici durante l'abbattimento non è

solo un problema etico. In un approccio One-Health della sicurezza alimentare che includa la tutela del benessere animale, potrebbe essere vantaggioso, almeno inizialmente, definire criteri di riferimento per l'abbattimento dei prodotti ittici sulla base del principio di precauzione del Regolamento CE 178/04 in attesa di ulteriori dati scientifici.

Tabella 1.

Criteri fisiologici di sensibilità dolorifica e capacità cognitiva (Birch et al., 2021)	
1	presenza di nocicettori
2	possesso di aree integrative cerebrali
3	presenza di connessioni tra nocicettori e aree integrative cerebrali
4	risposte a stimoli dolorosi modificate da analgesici o anestetici locali
5	compromessi motivazionali che mostrano capacità di compiere scelte calcolate tra i rischi e i potenziali benefici di una ricompensa
6	comportamento di auto-protezione (istinto di autoconservazione) flessibile in risposta a danno e minacce
7	ulteriori capacità di apprendimento associativo, oltre l'abitudine e la sensibilizzazione
8	comportamento di risposta positiva dell'animale alla somministrazione di anestetici o analgesici quando ferito.

C20

ANALISI RETROSPETTIVA DI *VIBRIO* SPP. ISOLATI DA CROSTACEI IN COMMERCIO MEDIANTE MLSA (MULTILOCUS SEQUENCE ANALYSIS)

M.S. Rahman¹, S. Currò², B. Cardazzo², S. Balzan², E. Novelli², G. Caburlotto³, A. Manfrin³, L. Fasolato²

¹Department of fisheries, university of Dhaka, faculty of biological sciences, Dhaka, Bangladesh; ²Dipartimento di biomedicina comparata e alimentazione, Università di Padova, Legnaro (PD), Italy; ³Centro di referenza nazionale per lo studio e la diagnosi delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei, istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD), Italy

Scopo: Il genere *Vibrio* comprende specie patogene sia per l'uomo che per gli animali. L'identificazione accurata e la caratterizzazione dei vibrieni facilita la comprensione dei rischi associati al consumo di prodotti ittici accertandone le specie causa di vibriosi. A oggi non sono stati proposti criteri microbiologici specifici per le specie maggiormente coinvolte in casi di malattia di origine alimentare (*V. vulnificus* - *VV*, *V. cholerae* - *VC*, *V. parahaemolyticus* - *VP*); tuttavia, nella comunità europea, i casi di vibriosi sono in aumento anche a causa della crisi climatica. In Italia viene indicata la ricerca di vibrieni enteropatogeni (*VP*, *VC*) e la conferma molecolare di alcuni geni di virulenza, tuttavia l'eziopatogenesi delle vibriosi è molto eterogenea e può contemplare ulteriori meccanismi d'azione. Questo studio mira a illustrare le potenzialità del MLSA (*Multilocus Sequence Analysis*) per la caratterizzazione di vibrieni quale strumento a supporto della sicurezza alimentare. Viene inoltre proposta un'analisi retrospettiva di ceppi isolati da prodotti reperiti in commercio nel Nord-Est Italia. **Metodi:** 92 ceppi di *Vibrio* sono stati isolati nel 2011 da 6 diverse specie di crostacei di origine locale o estera freschi e decongelati. Gli isolati sono stati identificati con test biochimici; per le specie potenzialmente enteropatogene sono stati svolti i test di conferma molecolare via multiplex PCR (geni: *ToxR*, *Tih*, *TDH*, *TRH* e dei marker pandemici). È stata eseguita l'analisi di sequenza di 4 geni *housekeeping* (*gyrB*, *pyrH*, *recA* e *atpA*) utilizzando lo schema MLSA del database *Vibrio* spp - pubmlst (*Public databases for molecular typing and microbial genome diversity*). Differenti analisi bioinformatiche sono state condotte per la corretta

attribuzione di specie utilizzando le sequenze ricavate da 29 ceppi di referenza. L'identificazione molecolare è stata confrontata con l'attribuzione fenotipica per valutare sovra- o sottostime nelle diverse specie isolate. Le nuove sequenze identificate sono state depositate nel database per effettuare analisi comparative con 1,184 isolati, 969 sequenze alleliche e 272 genomi. **Risultati:** le analisi filogenetiche evidenziano 10 cluster genetici e una struttura formata da 12 sub-popolazioni. Il confronto tra identificazione mediante MLSA, analisi PCR specie-specifica e test biochimici ha mostrato una sovrastima di questo ultimo approccio degli isolati attribuiti alla specie *VP*. Non sono stati identificati *VV* e *VC* e nessun isolato ha presentato i geni di virulenza studiati. L'utilizzo di pubmlst ha permesso di evidenziare una correlazione genetica tra il ST529 (*ST sequence type*) e ST195 isolato da casi di vibriosi da *V. alginolyticus* in Norvegia nel 2018. **Conclusioni:** L'analisi retrospettiva di isolati di *Vibrio* spp. da crostacei ha permesso una corretta riattribuzione delle specie isolate indicando come, per alcuni patogeni, possa sussistere una sovrastima dell'identificazione fenotipica. Risulta quindi appropriato, per le specie frequentemente causa di vibriosi, l'utilizzo di protocolli consolidati mediante PCR specie specifiche. L'utilizzo del MLSA può essere un valido supporto per le specie considerate minori quali: *V. alginolyticus*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*. L'aumento delle vibriosi in Europa dovrà considerare l'applicazione di differenti strumenti anche per indagare i possibili link epidemiologici delle varie specie nell'ottica di una scienza aperta a tutela del consumatore.

C21

CORRELAZIONE TRA I PARAMETRI AMBIENTALI E LA CONTAMINAZIONE DA *ESCHERICHIA COLI* IN MOLLUSCHI BIVALVI UTILIZZANDO UN METODO ANALITICO RAPIDO (MICROTRAC)

S. Currò¹, L. Fasolato¹, S. Balzan¹, G. Biziato², F. Paesanti³, L. Bargelloni¹, B. Cardazzo¹, E. Novelli¹

¹Università degli Studi di Padova, Dipartimento di biomedicina comparata e alimentazione, Padova; ²Azienda sanitaria dell'Alto Adige, laboratorio di analisi chimico-cliniche e microbiologia, Merano; ³Biologo libero professionista, Italy

Scopo: Questo studio mira in primis a comparare i risultati della carica di *E. coli* (MPN/100g) in molluschi bivalvi vivi (MBV) non depurati tramite metodica standard (numero più probabile; MPN) ed elettrochimica (impedometria); in secundis, valutare la correlazione della carica di *E. coli* in MBV (*Chamelea gallina*, *Ruditapes philippinarum* (RP), *Mytilus galloprovincialis* (MG)) in funzione delle variazioni dei parametri ambientali (pH, temperatura, O₂, salinità, pluviometria e livello idrometrico del Po) registrati dalle stazioni idrobiologiche in 5 aree di campionamento della costa Veneto-Emiliana nell'arco di un anno. **Metodi:** La concentrazione di *E. coli* è stata rilevata in 133 campioni tramite il metodo diretto MPN (EN/ISO 16649-3:2015). L'analisi impedometrica (MicroTrac 4200; SY-LAB instruments, Neupurkersdorf, Austria) è stata precalibrata sui dati ottenuti dal metodo MPN e applicata a 690 campioni. Il grado di concordanza tra le due metodiche è stato valutato attraverso regressione lineare e McNemar test considerando 4 classi di contaminazione (<230, 230-700, 700-4600, >4600 MPN/100g). I parametri ambientali sono stati registrati dalle stazioni idrobiologiche di monitoraggio poste in prossimità degli areali di raccolta considerati (sacche di Goro, Marinetta, Vallona,

Scardovari e nella foce del Po di Volano). Il sito e la stagione di campionamento sono stati investigati tramite analisi permutazionale multivariata della varianza e regressione logistica ordinale per valutare l'effetto delle diverse variabili ambientali sulla contaminazione di *E. coli* dei MBV. **Risultati:** Dal confronto tra le due metodiche (Log MPN × Log imped.) emerge una moderata e significativa ($p < 0,01$) correlazione positiva (0,60 e 0,69 coeff. di Pearson e di Spearman, rispettivamente) per la quantificazione di *E. coli* in RP; in MG si osserva una debole correlazione positiva non significativa. Il McNemar test evidenzia che i due metodi classificano in modo simile le varie classi di campioni ad eccezione della classe più contaminata, dalla quale emerge che l'impedometria sovrastima il numero di campioni > 4600 MPN/100 g rispetto alla metodica standard. In generale, dall'analisi della varianza risulta che la contaminazione è influenzata da salinità, temperatura e ossigeno; mentre a livello locale la variabilità è spiegata principalmente da idrometria e salinità. Considerando la specie è emerso che la contaminazione in MG non è condizionata da variabili ambientali in modo significativo, forse a causa della scarsità numerica, mentre per RP la contaminazione risente della salinità e parzialmente della temperatura dell'acqua. **Conclusioni:** Il metodo impedometrico rappresenta un'opportunità per il centro di depurazione che può stimare in modo rapido (11 ore) il grado di contaminazione iniziale di *E. coli* e mettere in atto procedure mirate anche in ragione di eventi ambientali o situazioni che nelle ore precedenti la raccolta possano aver causato un incremento della contaminazione. La conoscenza dei fattori ambientali, quali salinità e idrometria potrebbe altresì ottimizzare la gestione dei processi di depurazione. Studi futuri valuteranno ulteriori variabili ambientali, come la composizione faunistica e fitoplanctonica presente nei siti di allevamento.

C22

PRODUZIONI ITTICHE SOSTENIBILI DEL LAGO TRASIMENO: CARATTERIZZAZIONE DEL RISCHIO NELLA REFEZIONE SCOLASTICA DELL'INFANZIA E PRIMARIA

R. Roila¹, A. Piersanti², A. Valiani², D. Ranucci¹, T. Tavoloni², A. Stramenga², F. Griffoni², P. Palombo², R. Franceschini³, F. Agnetti², R. Branciani¹

¹Dipartimento di medicina veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Perugia; ²Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia; ³Dipartimento di scienze ingegneristiche, Università Guglielmo Marconi, Roma, Italy

I prodotti della pesca sono particolarmente esposti ai pericoli di natura ambientale, indipendentemente dal fatto che questi ultimi siano riconducibili alle attività antropiche o naturalmente presenti nell'ecosistema. Il monitoraggio costante della fauna lacustre in funzione del rapporto rischio/beneficio alimentare potrebbe rappresentare uno strumento utile per fornire al consumatore garanzie di salubrità dei prodotti ittici, soprattutto per quelli destinati a fasce di popolazione particolarmente vulnerabili. Scopo del presente studio è stato quindi quello di: i) caratterizzare il Carassio (*Carassius auratus*), specie più rappresentata nel lago Trasimeno, per la presenza di contaminanti organici ed inorganici nel muscolo; ii) valutare l'esposizione alimentare associata a detti contaminanti in una specifica sottopopolazione (bambini di età compresa tra i 3 e gli 11 anni), a seguito di consumo di prodotti ittici del lago Trasimeno somministrati nell'ambito della refezione scolastica; iii) valutare il rischio a cui vengono esposti i consumatori, correlato all'esposizio-

ne alimentare, attraverso l'analisi rischio/beneficio. Nel periodo 2018-2021 sono stati catturati ed inviati ai laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, un totale di 236 esemplari di specie Carassio. Le indagini hanno riguardato la valutazione dello status sanitario della specie ittica campionata attraverso l'esecuzione di esami necroscopici e test di laboratorio per la ricerca dei principali agenti infettivi ed infestanti della fauna ittica lacustre ed alla determinazione dei residui di ritardanti di fiamma bromurati BFR (PBDE e HBCD), PCB e metalli pesanti (As, Cd, Co, Hg, Ni, Pb). Dal punto di vista parassitologico e virologico tutti i campioni esaminati sono risultati negativi. Anche le analisi batteriologiche hanno dato esito negativo fatta eccezione per alcuni soggetti raccolti durante un'episodio di mortalità intervenuto nel periodo aprile-maggio 2022, che sono risultati positivi alla ricerca di *Aeromonas sobria*. In questo caso il batterio, normalmente presente nell'ambiente acquatico può infettare i soggetti sottoposti a condizioni stressanti come, ad esempio, il sovraffollamento, la temperatura elevata delle acque, ecc., causando una setticemia emorragica. Relativamente ai contaminanti chimici i risultati evidenziano che nella stragrande maggioranza dei campioni i BFR non sono superiori al limite di quantificazione del metodo (LOQ=10 pg/g). I PCB, espressi come somma dei sei congeneri indicatori, sono al di sopra del limite di quantificazione del metodo per tutti i campioni, ma sempre al di sotto del limite massimo definito nel Reg. CE 1881/2006 (75 ng/g di peso fresco), con valori per la somma dei sei congeneri compresa tra 0,62 e 5,0 ng/g. I livelli dei contaminanti inorganici quali Hg, Pb e Cd sono risultati ampiamente inferiori ai tenori massimi indicati nello stesso Regolamento e stabiliti rispettivamente in Hg=0.5 mg/kg; Pb=0.30 mg/kg; Cd=0.050 mg/kg di peso fresco. L'applicazione dell'analisi rischio/beneficio ha permesso di affermare che i benefici per la salute dei consumatori derivanti dal consumo di Carassio del lago Trasimeno superano i potenziali rischi; pertanto, i prodotti ottenuti dal Carassio non comportano rischi significativi per la salute e possono essere consumati regolarmente dai bambini di età compresa tra i 3 e gli 11 anni.

C23

VALUTAZIONE DEL RISCHIO ASSOCIATO AL CONSUMO CALAMARI E TOTANI PROVENIENTI DALL'ALTO ADRIATICO IN FUNZIONE DELLA CONTAMINAZIONE DA METALLI TOSSICI

M.O. Varrà¹, L. Husáková², J. Patočka², A. Ianieri¹, S. Ghidini¹, E. Zanardi¹

¹Università di Parma, Dipartimento di scienze degli alimenti e del farmaco, Parma, Italy; ²Università di Pardubice, Dipartimento di chimica Analitica, Repubblica Ceca

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare il grado di contaminazione da metalli tossici di campioni di calamaro e di totano di provenienza nazionale e di caratterizzare il rischio per la popolazione italiana di essere esposta a concentrazioni di metalli tali da rappresentare un potenziale pericolo per la salute. È stato tenuto in considerazione un campione complessivo pari a 50 esemplari di calamaro (*Loligo vulgaris*) e 50 esemplari di totano (*Todarodes sagittatus*) pescati nell'Alto Adriatico (Mar Mediterraneo Centrale, sottozona FAO 37.2.1). La porzione muscolare di ciascun esemplare è stata analizzata tramite spettroscopia di assorbimento atomico per la quantificazione di Hg e tramite spettrometria di massa con plasma accoppiato induttivamente per la quantificazione di Cd e Pb. L'esposizione dietetica è stata stimata mettendo in correlazione

le concentrazioni di metalli con i dati di consumo alimentare medio relativi a cinque classi di età della popolazione italiana (bambini, adolescenti, adulti, anziani e grandi anziani). Il rischio associato al consumo dei due prodotti è stato valutato confrontando le stime di esposizione con le dosi di tolleranza settimanali (TWI, *Tolerable Weekly Intake*) relativamente alla presenza di Cd e Hg o calcolando il margine di esposizione (MoE, *Margin of Exposure*) relativamente alla presenza di Pb. Sebbene non siano state riscontrate differenze statisticamente significative fra i prodotti in relazione ai livelli di contaminazione da Pb ($p \geq 0.001$), i campioni di totano hanno mostrato concentrazioni circa tre volte più elevate di Hg totale (0.27 ± 0.18 vs. 0.078 ± 0.021 mg/kg, $p < 0.001$) e circa cento volte più elevate di Cd (0.57 ± 0.55 vs. 0.0060 ± 0.0021 mg/kg, $p < 0.001$), al punto che più del 93% dei campioni di totano analizzati è risultato non conforme al limite massimo di Cd stabilito dalla normativa vigente. Dalla valutazione dell'esposizione dietetica è emerso che, a prescindere dal contaminante metallico considerato, la fascia di popolazione più giovane era esposta alle concentrazioni più elevate di metalli, mentre la popolazione più anziana alle concentrazioni più basse. Nello specifico, il consumo di calamari è stato associato al più elevato intake di Pb da parte dei bambini (0.11 µg/kg p.c./sett) e, di conseguenza, ai valori più bassi (e dunque maggiormente preoccupanti) di MoE correlati al rischio di neurotossicità da Pb (MoE=33.1). Al contrario, per ciascuna fascia di età considerata, il consumo di totani è stato associato ad una maggiore assunzione di Hg inorganico (0.35 - 0.92 µg/kg p.c./sett.), Hg organico (0.56 - 1.47 µg/kg p.c./sett.) e Cd (1.47 - 3.90 µg/kg p.c./sett.), con valori particolarmente elevati nel caso dei bambini e degli adolescenti. Tali intake rappresentano il 9-23%, 43-113% e 59-156% dei TWI stabiliti rispettivamente per Hg inorganico, Hg organico e Cd. Le assunzioni di Hg organico e Cd attraverso il consumo di totani da parte della popolazione più giovane, poiché ben superiori ai relativi TWI, suggeriscono dunque la necessità di implementazione di apposite azioni di gestione del rischio. Fra queste, la raccomandazione ad un consumo moderato di questa specie ittica, da indirizzare alle fasce d'età più vulnerabili, rappresenterebbe un'opportuna strategia di intervento al fine di minimizzare l'esposizione a tali contaminanti.

II Sessione PRODOTTI ITTICI e I Sessione TEMATICHE VARIE

C24

RICERCA E CARATTERIZZAZIONE DI MICROPLASTICHE FIBROSE E FIBRE NATURALI IN SPECIE ITTICHE PELAGICHE E BENTONICHE DI INTERESSE COMMERCIALE

S. Santonicola^{1,2}, M. Volgare², E. Di Pace², R. Mercogliano³, M. Cocca², G. Raimo¹, 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, Naples, Italy

La presenza delle microplastiche (<5mm) in specie ittiche di interesse commerciale è stata ampiamente documentata, destando non poche preoccupazioni circa possibile rischio per la salute dei consumatori. Sebbene le microfibre sintetiche rappresentino la tipologia di microplastica più diffusa, le attuali conoscenze circa i livelli e i potenziali effetti nel biota marino e nel consumatore risultano limitate. La mancanza di metodi analitici standardizzati, l'elevato rischio di contaminazione del campione e le ridotte dimensioni delle particelle, rendono la ricerca e la caratterizzazione delle microfibre, sia naturali che sintetiche, alquanto complessa. Scopo del lavoro è stato quello di valutare la contaminazione da microplastiche fibrose e fibre naturali in specie ittiche di interesse commerciale. I livelli di esposizione sono stati studiati considerando una specie bentonica (*Mullus barbatus*) e una pelagica (*Engraulis engrasicolus*), implementando una metodica incentrata sulla caratterizzazione delle microfibre in base a specifici elementi morfologici, coadiuvata da analisi FTIR. Complessivamente sono stati esaminati 30 campioni (n.15 esemplari di *E. engrasicolus* e n. 15 esemplari di *M. barbatus*) pescati nel Mar Tirreno. Il tratto gastrointestinale di ogni esemplare è stato sottoposto a digestione, utilizzando una soluzione di KOH al 10%, separazione densitometrica con soluzione salina satura e filtrazione su membrane di cellulosa con porosità di 8 µm. I filtrati ottenuti sono stati esaminati utilizzando un microscopio ottico LEICA M205C ad un ingrandimento di 0,78-16x. Le fibre repertate sono state enumerate e distinte in naturali e sintetiche, in base alle caratteristiche morfologiche, mentre la microscopia FTIR è stata impiegata per la caratterizzazione chimica. L'osservazione dei filtrati al microscopio ha permesso di rilevare nel 46 e nel 60% dei campioni di alici e triglie, rispettivamente, la presenza di microfibre, di cui il 40% classificate come sintetiche. Nelle alici è stata riscontrata una media di 6,9 microfibre/campione, mentre nelle triglie sono state rilevate mediamente 9,2 microfibre/campione. La microscopia FTIR ha permesso di confermare la natura sintetica o naturale di alcune fibre. L'ingestione delle microfibre sia da parte delle alici, che si nutrono spostandosi lungo la colonna d'acqua, che da parte delle triglie, che vivono a contatto con i fondali, conferma la presenza ubiquitaria di queste particelle nell'ambiente marino. I risultati, ancorché preliminari, hanno evidenziato la prevalenza delle fibre naturali, considerate anch'esse una potenziale minaccia per il biota, poiché in grado di rilasciare contaminanti e additivi al pari delle fibre sintetiche. Inoltre, i prodotti ittici contaminati da microfibre possono essere fonte di esposizione per il consumatore, ma sono necessarie ulteriori ricerche per definire adeguatamente il rischio alimentare connesso. L'approccio della caratterizzazione visiva può essere utile per differenziare le fibre sintetiche e naturali, rap-

presentando un metodo facile e veloce per ottenere informazioni sulla presenza e il tipo di microplastiche fibrose in matrici complesse come i tessuti biologici delle specie ittiche di interesse.

C25

IL RUOLO DELL'OSA NELLA VALUTAZIONE DEL PESCATO DI ACQUA DOLCE INFESTATO DA *EUSTRONGYLIDES* SP

R. Franceschini¹, D. Ranucci², A. Valiani³, R. Roila⁴, F. Agnetti⁵, I. Corti⁶, R. Branciarì⁷

¹Dipartimento di Scienze Ingegneristiche, Università Guglielmo Marconi;

²Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia;

³Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche;

⁴Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia;

⁵Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche; ⁶Agenzia di Tutela della Salute dell'Insubria; ⁷Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Italy

I prodotti ittici sempre più apprezzati dal consumatore in virtù dell'elevata qualità nutrizionale possono essere responsabili della trasmissione di zoonosi di origine parassitaria. A fronte di alcune ben note zoonosi di origine parassitaria, recentemente, l'interesse dei ricercatori si è concentrato sulla crescente diffusione di *Eustrongylides*, un nematode rinvenuto in numerosi bacini italiani di acqua dolce. Conseguentemente OSA ed Autorità Competente che operano nella filiera del pesce d'acqua dolce sono stati chiamati a definire misure preventive e procedure di verifica per la gestione di questo nuovo pericolo. Il lago Trasimeno ha assistito ad un crescente livello di infestazione in particolare nelle specie Persico reale (*Perca fluviatilis*) e Latterino (*Atherina boyeri*). Scopo del presente studio è stato quello di valutare la prevalenza di *Eustrongylides* sp nel pescato del lago Trasimeno e le procedure per consentire la commercializzazione dei prodotti ittici locali. Nel periodo maggio 2021 giugno 2022 la locale cooperativa ha provveduto alla cattura di un quantitativo di persico reale e latterino in linea con le medie dell'ultimo quinquennio. Queste due specie, particolarmente attenzionate in relazione alla prevalenza della parassitosi, sono state sottoposte a controllo visivo secondo quanto previsto dal Reg. CE 2074/2005 (Allegato II, Sezione I capitolo II). Il numero di soggetti analizzati ed i criteri adottati sono stati differenziati in base a specie e tipologia di prodotto finito. Le osservazioni sono state condotte da personale formato sulla base di una lista di riscontro elaborata dall'OSA. Per il Persico reale, destinato alla produzione di filetti senza pelle, sono stati esaminati il 100% dei prodotti con esame ispettivo tramite speratura (osservazione in trasparenza esponendo ogni filetto ad una congrua fonte di luce) con toelettatura (curettage) delle porzioni infestate o eliminazione del filetto. Per il latterino, destinato ad essere venduto intero, è stato stabilito un piano di campionamento con la definizione di una soglia di accettabilità, in accordo con l'approccio proposto per la ricerca di *Anisakis* nelle acciughe in alcune circolari regionali (Regione Lombardia VSB/C/790/94, Regione Liguria 1/97, e altre). Relativamente al pesce persico i tassi di prevalenza sono diminuiti sensibilmente, passando dai valori più alti in assoluto registrati nei primi 4 mesi del 2021 (67.99% nel Persico reale), a quelli più bassi del periodo maggio 2021 giugno 2022 (30%), con possibilità di toelettatura dei filetti e cessazione delle eliminazioni (declassamento a sottoprodotto di origine animale) di filetti fortemente infestati. Per il latterino, si è assistito al passaggio da una prevalenza del 39.40% dei primi 4 mesi del 2021 ad una inferiore al 10% e l'applicazione del campionamento con soglia di accettabilità ha permesso la commercializzazione di tutti i lotti di

pescato del 2021-2022, contrariamente a quanto accaduto nell'anno precedente. Considerando che questo nematode è stato recentemente segnalato in diversi bacini idrici dulciacquicoli italiani e che la sua presenza è nota a livello globale in una vasta gamma di specie, i risultati di questo studio forniscono una possibile efficace strategia per la gestione del rischio relativo a tale pericolo emergente, a garanzia della qualità dei prodotti ittici d'acqua dolce e per la tutela della salute pubblica.

C26

VENDITA ABUSIVA DI MITILI NELL'AREALE CAMPANO: VALUTAZIONE DEL RISCHIO E NUOVE FRONTIERE PER LA TRACCIABILITÀ NELL'OTTICA ONE HEALTH

V. Vuoso¹, R.L. Ambrosio¹, Y.T.R. Proroga², M. Della Rotonda³, I. Venuti¹, F. Capuano²

¹Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, DMVPA; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, IZSM; ³Centro di Riferimento Regionale per la Sicurezza Sanitaria del Pescato Regione Campania, CRISsaP, Italy

In alcune aree della regione Campania è ancora presente la piaga della vendita abusiva dei molluschi bivalvi, mitili in particolare. Il Crissap (Centro di Riferimento Regionale per la Sicurezza Sanitaria del Pescato) che vede coinvolti Assessorato Sanità Regione Campania ASL Napoli 1, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno (IZSM) e Dipartimento di Medicina Veterinaria (DMVPA), ha da tempo intrapreso una lotta a tale fenomeno grazie anche alla collaborazione delle forze dell'ordine. All'azione di repressione è affiancata un'opera di analisi dei campioni sequestrati allo scopo di fornire dati sulla circolazione di patogeni di origine batterica e virale e quindi dati oggettivi a supporto della lotta contro la vendita abusiva di molluschi bivalvi nell'areale campano. Nell'arco dei primi 6 mesi del 2021 sono stati analizzati 10 campioni di mitili abusivi per la ricerca di *E.coli* (metodica ISO 16649-3), *Salmonella* spp. (metodica iQ-Check Salmonella II Bio Rad) e valutazione del profilo di antibiotico resistenza, di virus dell'Epatite A, Norovirus GI e GII (metodica ISO 15216-2:2019), di specie potenzialmente enteropatogene di *Vibrio* spp. (metodica ISO 21872-1:2017), con successiva identificazione mediante spettrofotometro MALDI-TOF/MS. Infine in collaborazione con la startup Farzati Tech S.r.l è stata definita la provenienza dei mitili, sfruttando la tecnologia *Near Infrared Reflectance Spectroscopy* (NIRS); il sistema è di tipo predittivo per cui gli spettri ottenuti vanno correlati a spettri di campioni con provenienza certa (nel caso specifico adriatica, flegrea, greca e spagnola). Le analisi eseguite hanno permesso di stabilire che in tutti i campioni i valori di *E.coli* erano superiori al limite di 230 MPN/100g fissato dal Reg. (CE) 2073/05 e smi. In 2 campioni è stata rilevata la presenza di *Salmonella* Infantis con importanti profili di resistenza verso due antibiotici, sulfametossazolo e azitromicina. In 4 campioni la ricerca di Norovirus ha dato esito positivo per i genogruppi GI e GII. Dalle colonie presunte di *Vibrio* spp. sono state identificate mediante MALDI-TOF/MS diverse comunità batteriche, di cui solo il 54% appartenente alla specie *Vibrio*: 24% *Shewanella putrefaciens*, 20% *Proteus mirabilis*, 2% *Shewanella algae*. Nello specifico, è stato isolato *Vibrio harveyi* (2%), *Vibrio alginolyticus* (44%) e *Vibrio parahaemolyticus* (8%), un enteropatogene che è stato rinvenuto in 8 campioni su 10. Gli spettri ottenuti dall'applicazione della tecnologia NIRS in 8 campioni hanno mostrato una percentuale di sovrapposibilità superiore al 58% con cozze di provenienza flegrea; i restanti con mitili provenienza Grecia e

Spagna. La cooperazione tra diversi enti e strutture ha permesso di ottenere una rete complessa di informazioni mediante la ricerca di batteri patogeni, virus e la rivelazione di provenienza e origine dei mitili sequestrati. I dati relativi alla provenienza lasciano supporre che i mitili commercializzati siano stati ottenuti dalla coltivazione di seme locale in specchi d'acqua non idonei. La presenza di Norovirus GI/GII, elevate concentrazioni di *E.coli*, ceppi di *Salmonella* antimicrobico resistenti e *Vibrio parahaemolyticus*, confermano la necessità di perseverare nei controlli sul territorio e di sensibilizzare i consumatori all'acquisto consapevole di molluschi bivalvi.

C27

RITROVAMENTO ACCIDENTALE DI UN TETRAODONTIDE (*SPHOERIDES MARMORATUS*) ALL'INTERNO DI UNA SEPIA ACQUISTATA IN PESCHERIA: VALUTAZIONE DEL RISCHIO ASSOCIATO ALLA PRESENZA DI TTX

L. Tinacci¹, A. Giusti¹, C. Malloggi¹, F. Galli¹, S. Dall'Ara², P. Marconi³, L. Gasperetti³, A. Armani¹

¹FishLab, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa, Pisa; ²Fondazione Centro Ricerche Marine, Cesenatico (FC); ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri, Pisa, Italy

Il presente lavoro descrive il ritrovamento, da parte di un consumatore, di un esemplare appartenente alla Famiglia Tetraodontidae (pesce palla) all'interno di una seppia (*Sepia officinalis*) congelata, acquistata in pescheria, e pescata nell'Atlantico centro-orientale (FAO 34). Il consumatore, uno studente di Medicina Veterinaria dell'Università di Pisa, riconoscendo nell'esemplare le caratteristiche morfologiche dei Tetraodontidi e consapevole dei rischi per la salute umana legati alla presenza di Tetrodotossina (TTX), si è rivolto al FishLab (Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa) per accertamenti. Scopo: Le analisi svolte dal laboratorio sono state finalizzate all'identificazione di specie (morfologica e molecolare) del Tetraodontide, e alla valutazione della tossicità dovuta all'eventuale presenza di TTX, sia nel pesce che nella seppia. Materiali e Metodi: Entrambi gli esemplari (pesce e seppia) sono stati misurati e pesati. Per l'identificazione morfologica del pesce sono state utilizzate le chiavi dicotomiche proposte dalla FAO. Per l'identificazione molecolare, il DNA è stato estratto con metodica di routine del laboratorio a partire da una porzione di tessuto dalla pinna caudale. Due frammenti appartenenti ai geni codificanti per la Citocromo Ossidasi sub. I (*COI*) e per il Citocromo b (*cytb*) sono stati amplificati e sequenziati. Le sequenze ottenute sono state sottoposte ad analisi BLAST su GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) e, per il *COI*, anche analisi IDS su BOLD (www.boldsystems.org). Entrambi gli esemplari (pesce e seppia) sono stati inviati al Laboratorio Nazionale di Riferimento per il Monitoraggio delle Biotossine Marine per la ricerca di TTX nei tessuti. Risultati: la seppia misurava 24 cm (mantello 14.5 cm) x 425 g di peso, mentre il pesce 14 cm x 43 g. L'utilizzo delle chiavi dicotomiche ha portato ad identificare il pesce come *Spherooides* spp., l'analisi molecolare ha restituito valori di identità 99-100% con le sequenze *COI* depositate su BOLD appartenenti alla specie *Spherooides marmoratus*. L'identificazione di specie su GenBank non è stata invece possibile in quanto non erano disponibili sequenze *COI* e *cytb* di questa specie. L'analisi tossicologica è ancora in corso. Discussioni e Conclusioni: Nei Tetraodontidi, la presenza e la quantità di TTX variano in funzione della specie e dell'habitat. I dati presenti in letteratura evidenziano che gli esemplari di *S. marmoratus* pescati nell'Atlantico orientale

contengano elevate concentrazioni di TTX a livello di gonadi e apparato digerente. La tossina è stata inoltre rinvenuta nel muscolo, seppure in concentrazioni minori. La letteratura non riporta invece alcuna informazione relativa al possibile passaggio di TTX dal pesce ai tessuti di altre specie legata al contatto prolungato o all'ingestione. Si pertanto ritenuto necessario indagare la presenza di TTX non soltanto nei tessuti dell'esemplare di *S. marmoratus* ma anche in quelli della seppia, al fine di poter effettuare una opportuna valutazione del rischio, anche alla luce della provenienza dell'esemplare catturato. Da sottolineare l'importanza di una costante e mirata campagna di informazione ai consumatori; in questo caso, le informazioni acquisite dallo studente durante il corso di Laurea relative alla morfologia e alla tossicità dei Tetraodontidi hanno reso quest'ultimo parte attiva nel processo di gestione del rischio.

C28

UN APPROCCIO NUOVO PER IL SUPERAMENTO DELLA RESISTENZA MICROBICA- NANOMATERIALI PER APPLICAZIONI AGRI-FOOD E VETERINARIA

L. Scotti¹, Y.T.R. Proroga², A. Mancusi², F. Capuano², D. Paludi³, C. Lopez Chavez³, J.B. Molina-Hernandez³, A. Aceto¹

¹Università di Chieti, Pescara; ²Istituto zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, Portici (NA); ³Università di Teramo, Italy

I nuovi nano-materiali possono presentare caratteristiche ad oggi ancora sconosciute. Si vuole attirare l'attenzione su di un nuovo nano-clusters di argento che ha presentato effetti battericidi e fungicidi su diverse specie sia batteriche che fungine. I dati ad oggi propongono l'impiego sia in campo alimentare (sicurezza e shelf life) che in campo agricolo o veterinario. I dati di tossicità verso cellule eucariote umane/animali e cellule vegetali sono molto distanti dai valori di efficacia dimostrati in vitro e in studi pre-clinici. La batterio resistenza e le patologie legate alla presenza di specie fungine rendono il nano-clusters il partner ideale per superare la batterio resistenza. I dati ad oggi dimostrano un principio di azione completamente differente dalle molecole utilizzate oggi. I nano-materiali possono certamente essere considerati la nuova era per un nuovo approccio terapeutico. L'unicità del nanomateriale presentato ha dimostrato di essere efficace contro batteri e funghi a concentrazioni molto piccole (< 1ppm). "un unico formulato per diverse applicazioni". Lo studio ha coinvolto diversi laboratori che per competenza e specificità hanno reso possibile i trials e fornito i dati sperimentali. Una sinergia multi-centrica.

C29

PREVALENZA E DISTRIBUZIONE DEI SEROVAR DI SALMONELLA ASSOCIATI PIÙ FREQUENTEMENTE ALL'INFEZIONE UMANA NEGLI ANIMALI DA PRODUZIONE ALIMENTARE E NELLE ACQUE AD USO IRRIGUO

M.F. Peruzi¹, I. La Tela², M.R. Carullo², S. Ioele², Y.T.R. Proroga², A. Balestrieri², N. Murru¹

¹Dipartimento di medicina veterinaria e produzioni animali, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli; ²Istituto zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, Dipartimento coordinamento sicurezza alimentare, Portici (NA), Italy

Salmonella, rappresenta uno dei principali agenti zoonotici causa di malattie a trasmissione alimentare a livello europeo. I principali serbatoi dell'infezione sono rappresentati da animali domestici e selvatici e l'infezione si verifica per contatto diretto con i reservoirs o in seguito al consumo di alimenti o acque contaminati. Lo scopo del presente studio è stato valutare la presenza e la diffusione di diversi sierotipi di Salmonella negli animali destinati alla produzione di alimenti e nelle acque ad uso irriguo, con particolare attenzione ai sierotipi associati più frequentemente all'infezione umana. Dal 2011 al 2021 in Campania e Calabria, per la ricerca di Salmonella spp. sono stati prelevati 473 organi e 293 campioni di feci da sette specie animali (bovini, bufali, capre, pecore, maiale, pollo e cinghiale) e 313 campioni di acque di irrigazione. I campioni sono stati analizzati mediante metodiche ISO accreditate. Le salmonelle isolate sono state tipizzate secondo lo schema di Kaufmann-White presso il centro di tipizzazione Salmonelle della regione Campania. Salmonella spp. è stata isolata in 269 organi (56,87%), 149 campioni di feci (50,85%) e 64 campioni di acque di irrigazione (20,45%). Le più elevate percentuali di positività sono state osservate in campioni prelevati dalle seguenti specie: bufalo (Organi=93,75%; Feci=96,15%), pollo (Organi=86,67%; Feci=78,05%) e maiale (Organi=76,77%; Feci=53,33%). Inoltre, mettendo a confronto gli anni 2011-2015 con 2016-2021 è stato osservato un aumento significativo della prevalenza di Salmonella ($p < 0,05$). S. Typhimurium è stato il sierotipo più frequentemente isolato negli animali, mentre S. Napoli è stato frequentemente ritrovato nelle acque. In particolare, nel bovino i sierotipi più frequentemente isolati sono stati: S. Typhimurium (17,39%), S. Derby e S. Rissen (entrambi nel 13,04% dei campioni); nel bufalo S. Typhimurium (13,10%), S. Muenchen (8,97%) e variante monofasica di S. Typhimurium (7,59%); nel suino S. Typhimurium (28,21%), variante monofasica di S. Typhimurium e S. Rissen (entrambi nel 10,26% dei campioni); nel pollo S. Kentucky (24,78%), S. Livingstone (11,93%) e S. Infantis (10,09%). Inoltre, la sottospecie diarizonae IIIb è stata frequentemente isolata nei campioni di capre (40%) e pecore (83,33%), mentre salamae II (14,12%) e diarizonae IIIb (11,76%) sono state frequentemente isolate nel cinghiale. In quest'ultimo animale è stato frequentemente isolato anche il sierotipo S. Napoli (10,59%). I risultati del presente lavoro dimostrano che, sebbene in Europa, piani di controllo atti a impedire la diffusione di Salmonella siano stati attuati all'interno di diverse filiere, la prevalenza di questo patogeno negli animali produttori di alimenti è elevata ed in costante crescita. Nel corso del presente studio S. Typhimurium è stato il sierotipo più frequentemente isolato dagli animali. Sia S. Typhimurium che la maggior parte dei sierotipi isolati dalle diverse specie animali rientra nei "Top 20" serovars responsabili dei casi confermati di Salmonellosi in Europa. Lo studio conferma inoltre che le acque di irrigazione siano una importante fonte di infezione da S. Napoli. In conclusione, i dati del presente lavoro testimoniano l'importanza dei controlli su tutta la filiera al fine di ridurre il più possibile la contaminazione da Salmonella spp. e quindi il rischio per la salute pubblica in un'ottica "One health".

C30

LA CROMATOGRAFIA IONICA COME TECNICA DI CONFERMA PER LA DETERMINAZIONE DEI POLIFOSFATI NEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE

G. Berardi, A. Di Taranto, V. Vita, E. Palomba, G. Rizzi, M. Iammarino

Istituto zooprofilattico sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italy

Con il termine "polifosfati" viene indicata una categoria di additivi alimentari ammessi in diverse tipologie di prodotti di origine animale in quanto migliorano l'aspetto e la consistenza dei prodotti. La determinazione analitica di questi additivi è particolarmente complessa e molti autori hanno dimostrato che gli attuali metodi normati non sono particolarmente affidabili in quanto, essendo indiretti, possono causare false positività o false negatività. In questo lavoro viene descritta una metodica analitica basata sulla cromatografia ionica per la determinazione dei polifosfati nei prodotti di origine animale (carni, formaggi e prodotti della pesca). Vengono inoltre descritti i risultati ottenuti nell'ambito dei controlli ufficiali effettuati nell'arco di 6 anni, anche tenuto conto delle recenti opinioni scientifiche rilasciate dall'EFSA sull'argomento. Tra il 2016 ed il 2021, nell'ambito dei controlli ufficiali dei prodotti alimentari, sono stati analizzati complessivamente n. 238 campioni per quanto riguarda la determinazione dei polifosfati aggiunti. I campioni sono stati analizzati mediante una metodica di cromatografia ionica con rivelazione conduttimetrica, che prevede l'estrazione di 4g di campione omogeneizzato con acqua ultrapura in vortex per 1 min. A seguito di microfiltrazione, il campione è già pronto per l'iniezione HPLC. La separazione cromatografica dei polifosfati viene ottenuta mediante cromatografo ionico che monta una colonna a scambio anionico IonPac® AS11-2 mm (Thermo Fisher Scientific), impostando un gradiente di NaOH 10 mM e NaOH 80 mM e soppressione della corrente a 100 mM. Il metodo è stato validato ed è accreditato. I campioni analizzati sono stati raggruppati in n. 12 categorie, in base alla numerosità (Tabella 1). Nessun campione è risultato "non conforme", ovvero con livelli di polifosfati superiori a quelli stabiliti nel regolamento No. 1333/2008/CE. Non sono stati determinati polifosfati nei campioni di molluschi, preparazioni a base di carne, formaggi semistagionati, molli ed a pasta filata.

Tabella 1.

Risultati ottenuti dalle analisi di 238 campioni di prodotti di origine animale per la determinazione di polifosfati

CATEGORIA PRODOTTO	N° CAMPIONI ANALIZZATI	N° > LOQ	% > LOQ	CONCENTRAZIONI (g kg ⁻¹)
PESCE	57	1	1.7	0.3
SURIMI	7	4	57.1	0.1 - 0.5 - 0.3 - 0.5
CROSTACEI	6	1	16.7	0.1
MOLLUSCHI	16	0	0	-
PREPARAZIONI A BASE DI PESCE	10	1	10.0	1.8
PREPARAZIONI A BASE DI CARNE	15	0	0	-
PRODOTTI CARNEI	25	1	4.0	4.7
FORMAGGIO SEMISTAGIONATO	33	0	0	-
FORMAGGIO FUSO	20	4	20.0	1.5 - 0.1 - 0.4 - 0.1
FORMAGGIO MOLLE	17	0	0	-
FORMAGGIO SPALMABILE	13	3	23.1	8.9 - 0.2 - 0.3
FORMAGGI A PASTA FILATA	19	0	0	-
TOTALE	238	15	6.3	0.3 - 0.1 - 0.5 - 0.3 0.5 - 0.1 - 1.8 4.7 - 1.5 - 0.3 - 0.4 0.1 - 8.9 - 0.2 - 0.3

Il maggior impiego di polifosfati, in termini di numero campioni > LOQ, è stato riscontrato nei campioni di surimi (57.1%), con concentrazioni variabili tra 0.13 e 0.54 g/kg, mentre la concentrazione più elevata è stata quantificata in un campione di formaggini (8.9 g/kg) (Figura 1). Un campione di wurstel ha fatto anche registrare una elevata concentrazione di polifosfati (4.7 g/kg, a fronte di un limite di legge pari a 5 g/kg). Livelli nel range 0.14 - 1.75 g/kg sono stati infine quantificati in campioni di formaggi fusi, merluzzo, gamberetti e chele di granchio. La tecnica di cromatografia ionica

con rivelazione a conducibilità soppressa descritta in questo lavoro consente la determinazione dei polifosfati nei più importanti prodotti alimentari di origine animale (carni, formaggi e prodotti della pesca) con elevata selettività e buona accuratezza. I risultati ottenuti nel corso di n. 6 anni di attività di controllo su tali prodotti ha permesso di evidenziare un impiego sostanzialmente non elevato di tali additivi in quanto questi sono stati quantificati solo nel 6.3% dei campioni analizzati, con assenza di non conformità ed una concentrazione media, nei campioni > LOQ, pari 1.33 g/kg, a fronte di limiti di legge che raggiungono i 20 g/kg (formaggi processati). *La partecipazione al Congresso AIVI 2022 è stata possibile grazie al Ministero della Salute che ha finanziato il Progetto di Ricerca IZSPB/07/RC.*

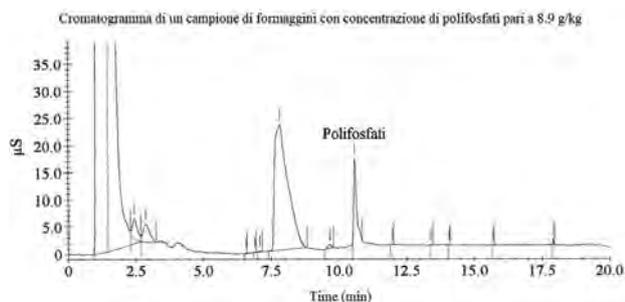


Figura 1.

C31

POTENZIALITÀ DEL PEPTIDE 1018-K6 NEL CONTENIMENTO DELLA DIFFUSIONE DI BATTERI PATOGENI MULTIRESISTENTI ATTRAVERSO GLI ALIMENTI

R.L. Ambrosio¹, A. Anastasio¹, G. Palmieri², R. Marrone¹, P.V. Escribá^{3,4}

¹Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di medicina veterinaria e produzioni animali, DMVPA, Italy; ²Istituto di Bioscienze e Biorisorse (IBBR)-CNR, Napoli, Italy; ³Laminar Pharmaceuticals SA, Palma de Mallorca, Spagna; ⁴Laboratorio di biomedicina cellulare molecolare, Dipartimento di biologia, Università delle isole Baleari, Palma de Mallorca, Spagna

La crescente diffusione dell'antimicrobico resistenza (AMR) è principalmente legata all'uso improprio delle stesse classi di antimicrobici in medicina umana e veterinaria. L'esposizione dell'uomo ai batteri resistenti può realizzarsi attraverso l'ingestione di alimenti contaminati causando gravi malattie di origine alimentare e fallimenti terapeutici. In questo contesto, grande attenzione è rivolta ai peptidi antimicrobici (AMP), proteine naturali e corte ad ampio spettro d'azione e non citotossiche. Rispetto agli antimicrobici convenzionali, hanno strutture e meccanismi d'azione differenti che potrebbero eludere le strategie di resistenza attualmente utilizzate dai microrganismi patogeni. Lo scopo del presente lavoro è stato, pertanto, studiare le interazioni tra un AMP, la cui efficacia antimicrobica è stata dimostrata, denominato 1018-K6 (AMP cationico, CAMP) e i liposomi di *i*) membrane modello, costituite da lipidi sintetici o naturali assemblati in maniera tale da imitare la composizione lipidica di membrane batteriche (*Salmonella Typhimurium* e *Staphylococcus aureus*), o *ii*) membrane batteriche di *Salmonella* spp. e *S. aureus*, isolati da matrici alimentari. Sono stati eseguiti saggi di affinità di legame tra AMP e liposomi (calcolo del numero dei siti di legame, B_{max} , e della costante di dissociazione, K_d) e studi di interazione spa-

ziale tra 1018-K6 e lo strato lipidico (quenching collisionale con acrilamide e nitrometano, calcolo della costante di Stern-Volmer - K_{sv}) mediante spettroscopia, sfruttando i segnali del residuo di triptofano (Trp) contenuto della sequenza peptidica. È stata, inoltre, indagata la capacità dell'AMP di creare pori nella membrana attraverso il test di rilascio della 5-carbossifluoresceina dai liposomi. L'affinità peptide-liposoma sembra essere influenzata dalla composizione lipidica delle membrane stesse e, quindi, dalla loro carica superficiale. I residui cationici dei CAMP vengono, infatti, attratti dai lipidi caricati negativamente tipici delle membrane batteriche. Difatti, bassissima è stata l'affinità riscontrata di 1018-K6 per le membrane con carica netta neutra o debolmente negativa (cellule eucariote). Al contrario, elevati valori di B_{max} sono stati ottenuti dallo studio delle interazioni AMP-membrane batteriche, modello e biologiche, sia di *Salmonella* che *Staphylococcus aureus* (10-100 volte più alti rispetto alle cellule eucariote). Sfruttando le diverse solubilità dei quencher (Q) e, quindi, la loro capacità di raggiungere e quenchare il residuo di Trp, è stato possibile indagare la posizione del peptide rispetto al bilayer lipidico e ipotizzare una localizzazione profonda nel peptide nel doppio strato lipidico. Infine, l'ipotesi che l'AMP formi pori nella membrana target è stata confermata dalle alte percentuali di permeabilità dei liposomi batterici (70-96%) indotta da 1018-K6 dopo soli 30 minuti di contatto. Concludendo, il CAMP mostra un'elevata affinità per i liposomi anionici (batterici), ai quali si lega fino a causarne la destabilizzazione. Agendo mediante la formazione di pori nel bilayer lipidico, 1018-K6 è in grado di eludere i comuni meccanismi di resistenza batterica ed agire verso batteri patogeni multiresistenti rinvenibili negli alimenti. Questo studio, pertanto, potrebbe aprire nuove frontiere e fornire dati utili per la progettazione di nuove molecole da introdurre nella formulazione di soluzioni sanitizzanti e packaging attivi.

C32

VENDING MACHINES: INDAGINI PRELIMINARI SULLA SICUREZZA E LA QUALITÀ DEI PRODOTTI EROGATI IN REGIONE CAMPANIA

I. Venuti¹, T. Muscariello², M. Ceruso¹, V. Vuoso¹, C. Vallone², G.B. Varcasia², T. Pepe¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli; ²Centro di Riferimento Regionale per la Sicurezza della Ristorazione Pubblica e Collettiva e delle Produzioni Agroalimentari Tradizionali (C.Ri.PA.T.), ASL Napoli 1 centro, Napoli, Italy

Le *vending machines* (distributori automatici - DA) sono molto diffuse in Italia, con circa 810 mila dispositivi su tutto il territorio nazionale. I DA rappresentano una modalità rapida ed economica di ristoro, pertanto sono presenti in numerosi luoghi di ritrovo e/o di passaggio quali industrie (35%), uffici privati (15%), scuole e Università (13%), ospedali (11%), uffici pubblici (6%) e zone di transito (4%). Nonostante i consumi di tali alimenti e bevande siano cospicui, e talvolta i prodotti siano destinati a categorie di consumatori sensibili, sono stati condotti pochi studi per valutarne gli aspetti igienico-sanitari. I prodotti erogati appartengono a diverse categorie (alimenti deperibili, non deperibili, confezionati, bevande, ecc.). La loro sicurezza è correlata a più fattori, tra i quali la qualità delle materie prime e dell'acqua, la frequenza e le modalità di manutenzione, la continuità di utilizzo, l'efficacia dei sistemi di sanificazione delle apparecchiature. Scopo del lavoro è stato valutare le condizioni igienico-sanitarie di DA situati in Regione Campania e

Sabato 24 settembre 2022

I Sessione LATTE E DERIVATI e II Sessione TEMATICHE VARIE

C33

GLI OLI ESSENZIALI: CONTROLLO E PREVENZIONE DEL BIOFILM DUAL-SPECIE NELLA FILIERA LATTIERO-CASEARIA

F. Maggio, A. Serio, C. Rossi, C. Purgatorio, F. Buccioni,
C. Lopez Chavez, A. Paparella

Università degli Studi di Teramo, facoltà di bioscienze e tecnologie agroalimentari e ambientali, Teramo, Italy

delle bevande da essi erogate. Sono stati campionati n° 10 DA. Da ciascun distributore, è stato prelevato un campione di prodotto finito (PF - cappuccino) ed un campione di ciascuna polvere (PLV - latte, caffè, ginseng e cioccolato). Sono stati effettuati tamponi superficiali (TS) sulla parete interna del tubo di aspirazione dell'acqua, sulle pareti interne della vaschetta in cui vengono miscelate le polveri (mixer) e sulla parete interna del beccuccio erogatore delle bevande. Sono stati valutati i seguenti parametri microbiologici: carica mesofila aerobia 30°C, Enterococchi, Enterobatteriacee, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *B. cereus*, lieviti e muffe. Le analisi sono state condotte mediante impiego di metodiche UNI EN ISO. La ricerca dei microrganismi patogeni *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* e *B. cereus* è stata effettuata mediante metodiche tradizionali e PCR Real-time ed end-point. I risultati delle analisi hanno evidenziato una carica mesofila aerobia 30°C compresa tra: 2.66 - 6.6 Log UFC/mL (PF); 1.96 - 5.37 Log UFC/g (PLV); 1.96 - 8.0 Log UFC/cm² (TS). La ricerca di enterococchi ha dato i seguenti valori: 1.96 - 6.56 Log UFC/mL (PF); 1.96 - 3.86 Log UFC/g (PLV); 1.96 - 6.57 Log UFC/cm² (TS). Enterobatteriacee ed *E. coli* sono risultati sempre assenti. Lieviti e muffe hanno presentato valori < 2 Log UFC/mL (PF); 1.96 - 2.74 Log UFC/g (PLV); 1.96 - 3.19 Log UFC/cm² (TS). Per quanto riguarda la ricerca di microrganismi patogeni, in tutti i distributori analizzati è stato possibile isolare *B. cereus* e *S. aureus*. *Salmonella* spp è stata identificata nei TS (beccuccio erogatore e mixer) di due DA. *L. monocytogenes* è stata rilevata nei TS (tubo di aspirazione dell'acqua e beccuccio erogatore) di un solo DA (Tabella 1). La persistenza di tali patogeni sulle superfici potrebbe essere correlata alla loro capacità di formare biofilm. I risultati preliminari di questo studio hanno consentito di evidenziare le criticità relative allo stato igienico-sanitario dei DA indagati, sottolineando la necessità di implementarne adeguati piani di autocontrollo, incentivare l'applicazione delle corrette *good manufacturing practice* (GMP), effettuare correzioni sulle modalità ed i tempi di sanificazione ed ottimizzare le attività di controllo ufficiale delle *vending machines* per elevare il grado di tutela dei consumatori.

Tabella 1.

	PF %positivi (positivi/totali)	PLV %positivi (positivi/totali)	TS %positivi (positivi/totali)
<i>B. cereus</i>	90% (9/10)	31% (12/39)	89% (25/28)
<i>S. aureus</i>	50% (5/10)	15% (6/39)	50% (14/28)
<i>Salmonella</i> spp	0% (0/10)	0% (0/39)	7% (2/28)
<i>L. monocytogenes</i>	0% (0/10)	0% (0/39)	7% (2/28)

Negli ambienti naturali, i biofilm microbici possiedono un'architettura multi-specie, che conferisce una maggiore stabilità, per via delle interazioni che si instaurano tra le cellule, e che svolgono un ruolo fondamentale per gli equilibri interni e per la resilienza a fattori esterni. Pertanto, i biofilm sono il risultato di un consorzio tra le comunità microbiche, che possono instaurare equilibri sinergici o antagonisti. Un esempio è il consorzio stabilito fra *Pseudomonas fluorescens* e *Listeria monocytogenes*, che rappresenta un rischio igienico-sanitario negli impianti lattiero-caseari. Ad oggi, sono valutate diverse strategie per il controllo e la prevenzione dei biofilm. Fra queste, emerge l'utilizzo di composti naturali, come gli oli essenziali, per l'efficacia antimicrobica esplicata e per il contenimento delle resistenze che derivano dall'impiego di antibiotici e conservanti di sintesi. Alla luce di quanto descritto, lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'attività inibente dell'olio essenziale (OE) di *Cinnamomum zeylanicum* (COE) e di *Thymbra capitata* (L.) Cav. (TOE) nei confronti del biofilm dual-specie tra *Pseudomonas fluorescens* e *Listeria monocytogenes*, isolati da prodotti lattiero-caseari e superfici di lavorazione. Al fine di simulare le condizioni ambientali presenti negli impianti lattiero-caseari, le analisi sono state svolte ad una temperatura di incubazione di 12°C per 168 h, in presenza di un substrato nutritivo a base di ricotta e determinando l'efficacia inibente dei due OE sulla produzione di biofilm su polistirene (PS) e acciaio inossidabile (SS) AISI 304. Inizialmente, è stata determinata la Minima Concentrazione Inibente (MIC) dei due OE per *Pseudomonas fluorescens* e *Listeria monocytogenes*, grazie alla quale è stato possibile scegliere la concentrazione d'uso degli OE (10 L/mL) per le successive analisi. L'efficacia inibente degli OE sulla formazione del biofilm dual-specie su PS e SS è stata determinata attraverso la quantificazione della biomassa totale attraverso il saggio del cristalvioletto. Infine, sono state enumerate le cellule planctoniche e sessili di *Pseudomonas fluorescens* e *Listeria monocytogenes* su SS, in seguito al trattamento con i due OE. I risultati hanno dimostrato come *Listeria monocytogenes* tragga beneficio dal consorzio con *Pseudomonas fluorescens*, in termini di protezione e capacità di adesione. I trattamenti con OE non hanno dimostrato una forte efficacia sulla popolazione sessile di *Listeria monocytogenes*, se in combinazione con *Pseudomonas fluorescens*, dove la massima riduzione osservata è stata di 0,6 Log UFC/cm² a partire da 72 h di trattamento con TEO. In termini assoluti, la maggior efficacia inibente è stata osservata dal COE. In particolare, è stato possibile determinare una significativa riduzione della popolazione sessile su SS prevalentemente su *Pseudomonas*

fluorescens, dove è stata osservata una riduzione di circa 2,5 Log UFC/cm²a partire dalle 72 h di incubazione. Pertanto, lo studio ha suggerito come il CEO meriti ulteriori approfondimenti per l'efficacia antimicrobica dimostrata, ma anche per la potenzialità di applicazione in ambito lattiero-caseario. Lo studio focalizza l'attenzione su un'ulteriore punto cruciale: la presenza di *Pseudomonas fluorescens* negli ambienti lattiero-caseari dovrebbe essere considerata non solo per il suo potenziale alterativo, ma anche per l'effetto protettivo che potrebbe esplicare su *Listeria monocytogenes*.

C34

DETERMINAZIONE DEL FATTORE DI CONCENTRAZIONE DI AFLATOSSINA M1 NEL FORMAGGIO A PARTIRE DA LATTE NATURALMENTE CONTAMINATO

L. Gambi¹, S. Sabatelli², F. Lelli Mami³, F. Paterlini³, C. Baiguera¹, L. Uboldi⁴, A. Biancardi⁴, P. Daminelli¹

¹Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, centro di riferimento nazionale per la qualità del latte bovino, Brescia; ²Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER), Sondrio; ³Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, reparto produzione primaria, Brescia; ⁴Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, reparto chimica degli alimenti e dei mangimi, Brescia, Italy

L'aflatossina M1 (M1) è una micotossina generata dal metabolismo epatico dell'aflatossina B1 (B1) nei ruminanti ed escreta con il latte. Entrambe le tossine sono cancerogene per l'uomo: la loro presenza viene monitorata in vari alimenti, ed in particolare l'M1 in quelli di tipo lattiero caseario. Il regolamento (CE) 1831/2003 stabilisce un limite di concentrazione di aflatossine nel latte di 0.050 g/kg, mentre tale limite non è definito per i formaggi. La Circolare n. 70600 del 23/12/2019 del Ministero della Salute ha proposto 4 diversi fattori di concentrazione (FC) per le aflatossine sulla base del tasso di umidità nella materia sgrassata (MFFB) dei formaggi di latte bovino. La varietà del patrimonio caseario italiano è tale che tanti possono essere i fattori in grado di influenzare FC nel formaggio. Lo scopo del presente lavoro è quello di determinare FC di M1 in formaggi a diversa MFFB partendo da latte naturalmente contaminato. Otto formaggi sono stati prodotti nel caseificio sperimentale dell'IZSLER di Brescia, a partire da altrettante partite di latte naturalmente contaminato. La caseificazione è stata effettuata secondo un protocollo di produzione sovrapponibile ad un formaggio di tipo Italo-provaeta portando la stagionatura sino ad ottenere un formaggio con caratteristiche di MFFB riconducibili anche a formaggi duri ed extraduri. I campionamenti sono stati condotti dalla prima alla quinta settimana di stagionatura ogni 15 giorni. La concentrazione di M1 in latte, siero e formaggio è stata determinata utilizzando metodi ELISA quantitativi validati e accreditati. Nei formaggi è stata valutata anche l'umidità per il calcolo della MFFB, parametro fondamentale per categorizzare la durezza. La concentrazione di M1 nelle 8 partite di latte era compresa tra 0.018 g/kg e 0.384 g/kg, dei quali 4 campioni hanno mostrato valori superiori al limite di legge. La riduzione di concentrazione di M1 nel siero si è dimostrata direttamente proporzionale a quella del rispettivo latte di partenza. Sono state effettuate 8 lavorazioni di formaggio per un totale di 56 campionamenti. Sulla base della MFFB i formaggi sono suddivisibili in 3 categorie di FC: i molli e semimolli hanno ottenuto valori medi di FC rispettivamente di 1.58 e 2.03, mentre i semiduri di 3.34. I formaggi duri ed extraduri, visto il numero di campioni effettuati, sono stati raggruppati in una unica cate-

ria con un FC medio di 4.26. Diversamente dalla Circolare del Ministero del 23/12/2019, i risultati evidenziano come i valori di FC delle categorie molli e semimolli siano sovrapponibili, mentre quelli dei semiduri e duri sono invece differenti tra loro. L'unione delle categorie duri ed extraduri è dovuta a un numero di campioni inferiore rispetto alle altre categorie, a causa del tipo di tecnologia di caseificazione adottata. Inoltre, i valori di FC di tutte le categorie del presente lavoro sono inferiori rispetto ai valori proposti dal Ministero. Si rende necessario approfondire lo studio di FC per le diverse produzioni di formaggio non solo basandosi sulla MFFB, ma valutando anche se gli aspetti tecnologici della lavorazione stessa o i parametri merceologici possano avere relazioni con FC. In questo modo potrebbe essere possibile capire se e come sia identificabile un limite di legge che permetta di raggiungere l'obiettivo principale per la sicurezza del consumatore, preservando le tante tecnologie casearie del nostro paese.

C35

PRESENZA DI RESIDUI DI CLORATO E PERCLORATO IN LATTE CRUDO BOVINO DEGLI ALLEVAMENTI LOMBARDI

M. Nobile, R. Pavlovic, G. Mosconi, L. Danesi, S. Panseri, L.M. Chiesa

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di medicina veterinaria e scienze animali, Lodi, Italy

Clorati e perclorati sono contaminanti ambientali presenti in vari tipi di alimenti, compresi i prodotti lattiero-caseari. Il clorato è stato identificato come un residuo emergente, associato all'uso di sanificanti a base di cloro per la disinfezione di attrezzature e dell'acqua utilizzate nella lavorazione degli alimenti. Il clorato influisce sulla tiroide e sul sistema ematologico attraverso il danno ossidativo dei globuli rossi. Il perclorato, invece, è presente naturalmente nell'ambiente, ma viene anche rilasciato da fonti antropiche. Le principali potenziali fonti di contaminazione sono il suolo e le acque sotterranee contaminate da emissioni industriali o dall'uso di fertilizzanti naturali. Il perclorato inibisce in modo competitivo l'assorbimento dello iodio nella tiroide, causando ipotiroidismo; pertanto categorie sensibili come neonati e bambini sono particolarmente vulnerabili alla sua esposizione. Il latte e gli altri prodotti lattiero-caseari sono alimenti fondamentali, fonti di nutrienti chiave per la crescita e lo sviluppo di neonati e bambini. La sanificazione delle attrezzature per la lavorazione dei prodotti lattiero-caseari è di fondamentale importanza in tutta la filiera, per la prevenzione delle patologie di origine alimentare, ma contemporaneamente sono una possibile fonte di residui di clorati. Per proteggere i consumatori, la Commissione europea, con il Regolamento (UE) 2020/749, ha fissato il limite massimo di residui (LMR) per il clorato nel latte a 100 g/kg. Per il perclorato sono stabiliti degli LMR nel Regolamento (UE) 2020/685 solo per alcune matrici alimentari, ma non includono il latte e i derivati. Considerando che i dati relativi al contenuto di clorati e perclorati negli alimenti di origine lattiero-casearia sono limitati, l'obiettivo di questo studio preliminare è stato quello di valutare la presenza di questi due anioni in 70 campioni anonimi di latte crudo da cisterna raccolti da aziende della Lombardia. A tal fine, è stato sviluppato e validato un metodo analitico basato su un'estrazione liquido-liquido con metanolo e acqua acidificata con 1 % di acido formico (30:70) seguita da un'analisi in cromatografia ionica accoppiata alla spettrometria di massa ad alta risoluzione (IC-HRMS). Il clorato è stato rilevato nel 60% dei campioni analizzati, nell'intervallo di concentrazione compreso tra 2,1 e 16,0 g/kg

con un valore medio di $10,1 \pm 6,8$ g/kg. Il perclorato è stato rilevato con una frequenza del 95%, nell'intervallo compreso tra 0,4 e 5,6 g/kg, riportando un valore medio di $4,0 \pm 2,1$ g/kg. Sebbene le concentrazioni di clorato e perclorato fossero relativamente basse nel latte analizzato, hanno mostrato un'alta frequenza di ritrovamento. È ragionevole ipotizzare che il clorato entri nella filiera quasi esclusivamente come sottoprodotto di disinfezione, sia attraverso il contatto del latte con l'acqua clorata sia come residuo dei processi di pulizia presente sulle superfici delle attrezzature, dimostrando il suo possibile punto di ingresso dalle pratiche in azienda. L'utilizzo dell'acqua in tutti gli aspetti della produzione lattiero-casearia rimane un passaggio critico per l'introduzione dei due anioni nella catena di approvvigionamento. La presenza quasi ubiquitaria di perclorato indica che le vacche da latte sono esposte ad un apporto latente attraverso il consumo di mangime e acqua. Pertanto, la definizione di un LMR per il perclorato nel latte diventa necessario.

C36

EFFETTI DI UN NUOVO SISTEMA DI RAFFREDDAMENTO DURANTE LA FASE DI RASSODAMENTO NELLA PRODUZIONE DI MOZZARELLA DI BUFALA CAMPANA

M. Di Paolo¹, M. De Stefano², G. Polizzi¹, A. Anastasio¹, R. Marrone¹

¹Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di medicina veterinaria e produzioni animali, Napoli; ²Libero professionista controllo qualità aziendale, Italy

La produzione di latte bufalino in Italia è in crescita e oggi rappresenta circa il 95% del totale di latte di bufala prodotto nell'Unione Europea. Le sue caratteristiche qualitative hanno orientato l'interesse dell'industria casearia italiana verso la trasformazione in Mozzarella di Bufala Campana. Nella produzione della mozzarella il processo di rassodamento rappresenta una fase fondamentale poiché influenza le caratteristiche del prodotto finito in termini di peso finale e sicurezza igienico-sanitaria. Le fluttuazioni di temperatura delle acque di raffreddamento influenzano il tempo di permanenza delle mozzarelle nelle vasche e di conseguenza la qualità ed il peso finale. L'introduzione di sistemi di raffreddamento in grado di minimizzare le oscillazioni di temperatura dell'acqua delle vasche permetterebbe di condurre ad una maggiore capacità produttiva e ad un aumento della competitività delle imprese del settore con effettivi vantaggi economici, risparmio di tempo e di energia. Lo scopo del lavoro è stato valutare come l'utilizzo delle vasche di rassodamento con sistema di raffreddamento dotato di assorbitore ad ammoniacca (MA) influenza le caratteristiche organolettiche, nutrizionali, microbiologiche e sensoriali delle mozzarelle attraverso uno studio comparativo con i prodotti rassodati in vasche con sistema di raffreddamento tradizionale con chiller per l'acqua gelida (MT). Per le analisi sono state considerate mozzarelle di bufala campana DOP (125 g) di un caseificio situato in provincia di Caserta. Le prime valutazioni hanno riguardato i rilievi di temperatura e peso sui semilavorati all'uscita della formatrice, dalla vasca di rassodamento e dalla vasca della salamoia per determinare il calo peso. I campioni sono stati analizzati per (i) la composizione chimico-nutrizionale, (ii) le caratteristiche microbiologiche (iii) e la valutazione sensoriale. Per quest'ultima, ciascun campione è stato sottoposto alla valutazione di un panel test basato sulla verifica di 19 attributi riguardanti l'aspetto esterno e interno, l'odore/sapore ed in particolare la struttura e la masticabilità. Le analisi effettuate hanno evi-

denziato differenze fisiche, chimiche e sensoriali dei prodotti ottenuti dai due sistemi di raffreddamento. I campioni MT hanno evidenziato un calo peso complessivo pari a 7,4%, rispetto ad una media di 2,8% dei campioni MA ottenuti con sistema di raffreddamento con assorbitore ad ammoniacca. Le mozzarelle MT sono state caratterizzate da maggiore sapidità rispetto a quelle MA che invece hanno evidenziato un maggiore contenuto di acqua residua che ha influenzato il sapore e aumentato la succosità. Dal punto di vista microbiologico, la carica batterica mesofila si è mostrata sotto controllo nei campioni sottoposti al rassodamento con sistema di raffreddamento dotato di assorbitore ad ammoniacca poiché le basse e costanti temperature hanno inciso riducendo i tempi di sosta delle mozzarelle. La sperimentazione ha mostrato l'efficacia del sistema di raffreddamento ad ammoniacca anche sul peso del prodotto, il contenuto di acqua e la percezione sensoriale al momento della degustazione. Lo studio rappresenta una prima positiva valutazione dell'impiego di questa tecnologia nel comparto della produzione della mozzarella su scala industriale tenuto conto che per essere efficiente il sistema necessita di una mole di produzione annua tale da giustificare sia il costo d'esercizio dell'impianto che il costo energetico annuo.

C37

LA RIDETERMINAZIONE DELLA SHELF LIFE PRIMARIA DEI PRODOTTI ALIMENTARI. QUALI GARANZIE PER IL CONSUMATORE?

M.R. Micheli¹, L. Carosielli², C. Guarnieri¹, A. Rosamilia³

¹Azienda unità sanitaria locale di Modena; ²Azienda sanitaria locale di Foggia; ³Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Italy

Per shelf life, o vita commerciale di un alimento, si intende l'intervallo di tempo dopo la produzione e il confezionamento entro il quale, in specifiche condizioni di conservazione, lo stesso mantiene caratteristiche igienico sanitarie, nutrizionali e sensoriali accettabili. La determinazione della shelf life dei prodotti è, salvo rari casi (es. latte fresco, uova), rimessa alla valutazione dell'operatore. Il prolungamento di tale periodo, da anni oggetto di dibattito tra i diversi attori della catena alimentare (produzione, commercializzazione, controllo ufficiale), è divenuto argomento di fondamentale importanza anche a seguito delle recenti crisi economico/finanziaria, ambientale e sanitaria che hanno avuto una inevitabile ripercussione sui consumi e sul fenomeno dello spreco alimentare. Tale esigenza ha però sollevato dubbi e perplessità circa la possibilità di una rivalutazione delle condizioni stabilite all'origine dal produttore, soprattutto in termini di mantenimento delle garanzie per il consumatore per quanto riguarda l'aspetto igienico sanitario; anche se per alcune categorie di prodotti alimentari non è previsto l'obbligo di indicazione della durabilità, come nel caso di quelli non destinati al consumatore (semilavorati) di cui all'articolo 20 del Decreto legislativo No 231/2017. Inoltre, la sempre maggiore esigenza di una corretta informazione da parte del consumatore, ha spinto le Autorità europee a richiedere una consultazione pubblica sulla effettiva conoscenza e percezione del significato delle diciture obbligatorie quali la "data di scadenza" e "il termine minimo di conservazione", previste dall'articolo 9 del Regolamento (UE) No 1169/2011, spesso confuse, le quali possono assumere significati importanti come nell'applicazione delle norme in materia di limitazione degli sprechi alimentari rappresentate dalla Legge 19 agosto

2016, No 166 e dalla Legge 28 marzo 2022, No 25 con l'articolo 26 ter (Misure a sostegno dei produttori e contrasto allo spreco). A tal proposito, è utile ricordare come i recenti provvedimenti adottati dal legislatore dell'Unione, insieme alla casistica giurisprudenziale degli ultimi anni, hanno indotto i giudici di merito a conformarsi a quelli che sono i principi e requisiti di sicurezza alimentare espressi fin dal 2002 con l'articolo 14 del Regolamento (CE) No 178, prestando quindi maggiore attenzione all'analisi, la valutazione e la gestione del rischio dell'intera filiera produttiva. Il presente studio mira a considerare la possibilità di una rivalutazione della shelf life primaria dei prodotti alimentari passando in rassegna gli aspetti legislativi e tecnologici, tenendo conto delle esigenze commerciali, sociali e di mercato senza venir meno alle garanzie per la sicurezza del consumatore.

C38

RISTORAZIONE CAMPALE NELLE ATTIVITÀ OPERATIVE E ADDESTRATIVE DELL'ARMA DEI CARABINIERI

S. Pulze¹, N. Presti², A. Vergara³

¹Sezione del servizio per la veterinaria del comando generale dell'arma dei Carabinieri, Dipartimento per l'organizzazione sanitaria e veterinaria, Roma; ²Ufficio sanitario provinciale della questura di Napoli; Scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Teramo; ³Scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Teramo, Italy

L'adozione della circolare interna "Pub. n. C-19 - Compendio di disposizioni logistiche dell'Arma dei Carabinieri" ha permesso di aggiornare il settore del vettovagliamento della Forza Armata (F.A.) e, in particolare, l'ambito procedurale inerente alla ristorazione campale, precedentemente non regolamentata all'interno del comparto Difesa, con l'eccezione dei contingenti militari impiegati all'estero. L'obiettivo del presente lavoro è l'adeguamento normativo del servizio ristorativo campale alle procedure della Segnalazione Certificata di Inizio Attività (SCIA) ex Legge 241/90 e s.m.i.. Il Ministero Difesa si è adeguato al contesto legislativo di settore, adottando uno specifico modello per la notifica delle attività effettuate all'interno dei propri sedimi (Decreto Interministeriale 06/03/2020). Nella F.A. trova, peraltro, applicazione anche l'art. 44 del D.P.R. 327/1980, per quanto riguarda gli shelter frigo destinati alla conservazione degli alimenti a temperatura controllata; il rilascio dell'atto autorizzativo è esclusiva del Servizio per la Veterinaria del Comando Generale dell'Arma (CGA), con scadenza biennale, rinnovabile previa verifica degli specifici requisiti. Per le mense di servizio temporanee attivate per esigenze operative/addestrative è prevista la presentazione della SCIA almeno 15 giorni prima dell'avvio dell'attività, al fine di consentire una valutazione dei fattori di rischio, nonché la stesura di uno specifico Manuale di Corretta Prassi Igienica. Nel caso in cui l'attività di produzione e somministrazione di alimenti e bevande venga effettuata con l'impiego di personale militare, deve esserne garantita l'adeguata formazione in materia. Considerato che le modalità di presentazione della SCIA sono modulate in funzione della tipologia di conduzione del servizio, nella fase di avvio delle progettualità inerenti alle "imprese alimentari", il ruolo del Servizio per la Veterinaria è quello di emettere specifico parere tecnico sui requisiti igienico-sanitari dei locali, mentre la parte impiantistico-infrastrutturale è di competenza della Direzione Lavori del Genio del CGA. La mancata presentazione della SCIA costituisce violazione sanzionabile ai

sensi del D.Lgs. n. 193/2007; tuttavia, nell'ottica di una progressiva entrata a regime delle procedure introdotte, viene privilegiato l'eventuale ricorso allo strumento della «diffida amministrativa»: l'organo di controllo incaricato, nel caso in cui accerti per la prima volta l'esistenza di violazioni sanabili, diffida l'interessato, che dovrà adempiere alle prescrizioni nei termini previsti; nel caso di mancata ottemperanza, si procederà alla contestazione ex Legge 689/1981. Come anticipato, nel lavoro vengono valutati anche i requisiti igienico-sanitari degli *shelter frigo*, nonché la procedura per il rilascio della relativa Autorizzazione Sanitaria; nella fase di verifica, dovrà essere accertato il rispetto della normativa ATP (Accordo sul Trasporto delle merci Deperibili). Il Servizio per la Veterinaria detiene apposito "Registro cronologico" delle Autorizzazioni emesse. Attraverso l'aggiornamento procedurale descritto, si è raggiunto l'obiettivo del pieno assolvimento normativo, da parte della F.A., in materia di gestione della sicurezza alimentare nelle operazioni militari che prevedono l'impiego di moduli campali per il deposito/lavorazione/somministrazione di alimenti e bevande.

C39

MESSA A PUNTO E VALIDAZIONE DI UN METODO IMMUNOENZIMATICO PER LA DETERMINAZIONE DELLE PENICILLINE NELLE UOVA

S. Summa, S. Lo Magro, P. D'Antini, M. Muscarella

Istituto zooprofilattico sperimentale della Puglia e della Basilicata, Italy

Le uova rappresentano da sempre un importante alimento funzionale nell'alimentazione umana. Le penicilline (PEN) sono sostanze vietate nelle uova e secondo il Piano Nazionale Residui 2022, il CC, che i metodi per l'analisi di screening devono garantire, è pari a 5 µg/kg. Residui di PEN possono riscontrarsi nella parte edibile delle uova o a seguito di terapia sistemica degli avicoli o come conseguenza della disinfezione del guscio. Sebbene esistano vari metodi per la determinazione multiclasse di farmaci nelle uova mediante spettrometria di massa, l'utilizzo di metodi ELISA riveste ancora un ruolo importante nei laboratori di controllo ufficiale come uno strumento veloce e semplice nell'analisi di screening. Il presente lavoro ha come scopo la messa a punto di un metodo ELISA accurato e sensibile e, al contempo, di facile e rapida esecuzione per la determinazione delle PEN nelle uova, basandosi su un kit commerciale. La complessità chimica della matrice unita alla termolabilità degli analiti in oggetto ha richiesto uno studio preliminare degli step di estrazione e di purificazione. Ottimizzate le condizioni per la lettura strumentale, si è proceduto alla fase di validazione del metodo secondo il nuovo Regolamento UE 810/2021 di modo da renderlo "fit for purposes" nell'analisi di controllo ufficiale. Il metodo proposto adopera il kit immunoenzimatico ELISA (EuroProxima Penicillin ELISA R-Biopharm) e consente la determinazione della concentrazione totale di PEN nell'intervallo 1-8 g/kg. La metodica preparativa messa a punto prevede una fase di estrazione di 1 g di campione (tuorlo ed albume previamente omogeneizzati) con 1 ml di acqua, centrifugazione e sgrassaggio con 1 ml di esano. L'estratto ottenuto è sottoposto poi al protocollo di trattamento e lettura strumentale previsti dal kit immunoenzimatico. Il metodo è stato successivamente validato, ai sensi del Reg. UE 810/2021 verificando le seguenti prestazioni analitiche: specificità, errore, robustezza, precisione e recupero. In una prima fase del lavoro si è proceduto allo sviluppo di una metodica estrattiva facile e veloce che garantisse risultati accurati al livello di interesse (LI)

prescelto. In particolare si è variato il tipo di solvente estraente (acetone nitrile e acqua in miscela di varie proporzioni) e si è studiato il volume ottimale di esano da adoperare nella fase di sgrassaggio. Le prove sono state condotte adoperando dapprima l'ampicillina come standard di riferimento e successivamente testando la metodica anche per PEN con cross-reattività più basse indicate dal kit. Le prove per la verifica della specificità e dell'errore sono state condotte parallelamente analizzando 20 bianchi campione di uova (categoria A, varie dimensioni e tipi di allevamento) a cui sono stati associati 20 additivi all'LI (2.5 µg/kg). Studi di robustezza hanno mostrato variazioni poco significative dei risultati in condizioni di kit appena aperto e kit aperto da 30 giorni. La fase di esecuzione del saggio invece è risultata fortemente condizionata dalla temperatura che deve essere mantenuta in un idoneo range di temperatura al fine di ottenere risultati riproducibili. Infine, i valori di CV% di ripetibilità (11 %) ed il valore di recupero medio (96%) ricavati da 6 replicati all'LI di 2.5 µg/kg, hanno soddisfatto i criteri stabiliti nel Reg. UE 810/2021. Il metodo ELISA sviluppato nel lavoro è risultato idoneo per il controllo ufficiale delle penicilline nelle uova previsto dai Piani Nazionali.

C40

INDAGINE SULLA PERCEZIONE DELLA CULTURA DELLA SICUREZZA ALIMENTARE IN TRE AZIENDE ALIMENTARI TOSCANE

F. Marconi, M. Sartoni, R. Nuvoloni, B. Torracca, M. Gagliardi, G. Zappalà, A. Guidi, F. Pedonese

Dipartimento di scienze veterinarie, Università di Pisa, Pisa, Italy

L'adozione di un sistema di gestione della sicurezza alimentare rappresenta un requisito cogente per gli operatori del settore alimentare; il Reg. UE 2021/382, che modifica il Reg. CE 852/2004, richiede di adottare e mantenere pratiche che attuino e incentivino la cultura della sicurezza alimentare (CSA) nell'ambito di tale sistema e di fornire prove a tale riguardo. La legislazione, tuttavia, non fornisce indicazioni specifiche su metodiche di indagine, attuazione o miglioramento, che vengono pertanto demandate agli stakeholder e che sono odierno oggetto di interesse scientifico. Il presente studio ha avuto come obiettivo quello di indagare la percezione della CSA tra gli addetti di tre aziende toscane del settore alimentare, carneo (A), caseario (B) e ittico (C), attive sul territorio nazionale ed estero, con un range di 34-102 addetti. L'indagine è stata condotta tramite somministrazione di un questionario, diviso in 6 sezioni riferite a diversi aspetti della CSA, e sottoposto ad una percentuale di addetti compresa tra il 76 e l'85%. Per A e B, ogni sezione era composta da 6 affermazioni su cui esprimere un giudizio, per un totale di 36 quesiti; per specifiche esigenze aziendali, nel caso C il questionario presentava variazioni su alcune domande e aveva 5 affermazioni per sezione. Per ogni affermazione è stato chiesto di indicare il grado di accordo usando una scala Likert a 5 punti, da 1 (totale disaccordo) a 5 (totale accordo). Per A e B la modalità di somministrazione è stata cartacea, mentre per C, tenendo in considerazione le limitazioni determinate dalla pandemia Covid-19, si è proceduto con somministrazione informatica. Nel complesso i risultati non hanno evidenziato importanti criticità. Tutte le aziende presentavano infatti un valore minimo delle mediane pari a 4 per le sezioni e pari a 3 (A-B) o 4 (C) per le singole domande. Riguardo all'anzianità di impiego degli addetti, in B per ogni sezione i punteggi del personale con maggiore anzianità (superiore a 3 anni di

impiego) sono risultati statisticamente inferiori a quelli del personale con minore anzianità (inferiore o uguale a 3 anni); anche per C, laddove esisteva una differenza significativa nei punteggi dati dalle due categorie, ovvero in 3 sezioni, questa evidenziava punteggi inferiori per il personale a maggiore anzianità. In A non è stato possibile fare un'analisi in base al tempo di impiego data la presenza di un solo addetto con 3 anni o meno di anzianità. Riguardo alle singole sezioni, la sezione "Consapevolezza e percezione del rischio" è risultata quella con i punteggi più elevati in tutte e tre le aziende e in B il dato risultava statisticamente significativo. Per quanto riguarda la sezione con i punteggi più bassi, la situazione risultava più diversificata. In B la sezione sulla formazione ha registrato i punteggi minori, statisticamente più bassi di tutte le altre sezioni, ad eccezione di quella sulla leadership, che aveva un punteggio medio di poco superiore. In C era invece la sezione sul lavoro di squadra ad avere i punteggi significativamente più bassi, mentre in A non veniva evidenziata una sezione con punteggi statisticamente inferiori alle altre. Nel complesso i risultati dei questionari sembrano evidenziare una buona percezione della CSA aziendale, sebbene identifichino margini di miglioramento, nei confronti dei quali sarebbe auspicabile l'elaborazione e l'implementazione di misure specifiche.

III Sessione **TEMATICHE VARIE**

C41

ATTIVITÀ DI CONTROLLO DEI REQUISITI IGIENICO-SANITARI NELLA RISTORAZIONE COLLETTIVA DELLA POLIZIA DI STATO

N. Presti¹, S. Pulze², F. Ciciliano³, A. Vergara⁴

¹Ufficio sanitario provinciale della questura di Napoli; scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Teramo; ²1^a sezione del servizio per la veterinaria del comando generale dell'arma dei Carabinieri, Dipartimento per l'organizzazione sanitaria e veterinaria, Roma; ³Divisione 2^a del servizio affari di sanità, Dipartimento della pubblica sicurezza, direzione centrale di sanità, Roma; ⁴Scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Teramo, Italy

Il presente lavoro si pone come obiettivo primario quello di uniformare le procedure che sovrintendono alle fasi di manipolazione, preparazione e distribuzione di alimenti e bevande nell'ambito della ristorazione collettiva all'interno delle strutture della Polizia di Stato. Può essere dunque considerato un ausilio per le procedure di valutazione da attuare nei confronti delle attività correlate ai servizi ristorativi effettuati nelle mense e nei bar siti all'interno delle strutture della Polizia di Stato. È stata elaborata una check list in cui sono stati stabiliti i criteri e le modalità di verifica di tali attività, al fine di valutare l'efficacia del sistema di controllo e, successivamente, permettere l'attuazione di eventuali interventi correttivi, con l'obiettivo di garantire il consumo di alimenti salubri e prevenire, di conseguenza, l'insorgenza di malattie a trasmissione alimentare. Lo studio è stato svolto nel 2022 in 6 mense della Polizia di Stato (PS) situate nell'area Centro Italia, gestite da ditta appaltatrice/concessionaria per lo specifico servizio. Tali strutture servono mediamente 300 pasti al giorno, suddivisi in 1-3 ordinari (colazione, pranzo e cena). Le mense esaminate hanno riportato 3 non conformità minori (nc), 3 non conformità maggiori (Nc), nessuna non conformità critica (NC). Gli ambiti più rappresentativi per quanto concerne le "nc" sono stati lo stato strutturale degli ambienti, l'assenza di barriere antinsetto, l'assenza di armadietti a doppio scomparto negli spogliatoi dedicati al personale addetto. In presenza di "nc", le difformità riscontrate sono state segnalate alla ditta e sono state effettuate raccomandazioni orali ai responsabili del servizio di ristorazione. Le "Nc" hanno riguardato la gestione della cartellonistica di informazione inerente agli allergeni alimentari per il personale che usufruisce del servizio mensa, l'aggiornamento delle tabelle di monitoraggio delle temperature, e la presenza di agenti infestanti volanti nelle aree di magazzino, dovuta, presumibilmente, all'apertura delle porte della struttura durante lo scarico del materiale. Le "Nc" sono state segnalate alla ditta e ai dirigenti della PS responsabili: all'interno dell'Amministrazione è previsto che, in caso di tali rilievi, si proceda inizialmente con raccomandazione orale, seguita, in caso di mancato adeguamento, da comunicazione scritta, diffida e, infine, sanzione di natura amministrativa. Al termine del lavoro, la check list è stata diramata ad altre strutture di ristorazione collettiva dell'Amministrazione per il prosieguo dello studio sull'uso sperimentale di tale strumento innovativo, da utilizzare durante i controlli ispettivi nelle mense/bar. In precedenza, infatti, non vi erano linee guida in materia che disciplinassero le modalità di svolgi-

mento dei controlli ispettivi da attuare periodicamente nelle attività di ristorazione collettiva. Tale lavoro riporta l'analisi e le misure correttive concernenti l'igiene della ristorazione collettiva nella Forza di Polizia, al fine di garantire la salubrità degli alimenti. I risultati del lavoro, che interessano gli aspetti igienico-sanitari e infrastrutturali della catena alimentare, la cui attenta osservanza è l'imprescindibile presupposto per garantire la regolarità delle procedure operative e la rispondenza del prodotto finito ai requisiti regolamentari e alle aspettative del consumatore, hanno evidenziato statisticamente un idoneo controllo sulla gestione di tali attività.

C42

STUDIO RETROSPETTIVO DELLA PREVALENZA DI *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IN ALIMENTI PRELEVATI NELLA REGIONE UMBRIA (ITALIA CENTRALE)

S. Primavilla¹, S. Farneti¹, R. Roila², R. Branciarì², C. Altissimi², A. Valiani¹, D. Ranucci²

¹Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia; ²Dipartimento di medicina veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy

Secondo recenti report di EFSA, *Yersinia enterocolitica* rappresenta uno dei principali agenti di tossinfezione alimentare in Europa. La valutazione delle possibili fonti di contaminazione e lo studio della prevalenza negli alimenti risulta quindi di notevole interesse per un corretto approccio di analisi del rischio di questo pericolo biologico. Sono stati valutati i risultati della ricerca di *Yersinia enterocolitica* in campioni di alimenti prelevati in Umbria e inviati presso l'Istituto Zooprofilattico dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" nel periodo 2015-2018. Sono state prese in considerazione differenti tipologie di alimenti sia ready to eat (prodotti a base di carne crudi, prodotti lattiero-caseari e vegetali crudi) sia preparazioni di carne da consumarsi previa cottura. I campioni sono stati saggiati mediante uno screening molecolare per il gene *OmpF*, indicatore di specie. I positivi allo screening sono stati sottoposti ad isolamento e le colonie isolate sono state ulteriormente caratterizzate dal punto di vista molecolare mediante la ricerca di alcuni geni di fattori di virulenza specifici, tra cui il gene *ail* responsabile dell'invasività e il gene *YstB* per la produzione di enterotossina. La prevalenza totale dei campioni positivi per *Yersinia enterocolitica* è stata del 17,62% con una maggiore percentuale di campioni positivi nelle preparazioni di carne (19,35%), seguite da verdure ready to eat (11,76%). Nessun campione positivo è stato riscontrato nei prodotti a base di carne e in quelli lattiero caseari, né è stata osservata una stagionalità nelle positività. Risulta interessante notare come i campioni di carni avicole hanno registrato una prevalenza molto superiore rispetto a quelle di suino e bovino. I ceppi di *Yersinia enterocolitica* isolati presentavano tutti assenza del gene di virulenza *ail* ma era presente il gene *YstB*. Si conferma come gli isolati presenti negli alimenti siano prevalentemente *ail* negativi, quindi appartenenti al biotipo 1A, ma dotati di altri fattori di virulenza e quindi potenzialmente patogeni per formazione di enterotossina. Poiché i ceppi isolati da pazienti umani sembrano essere prioritariamente biotipi in cui è evidente il gene *ail*, sarebbero necessari futuri approfondimenti in merito al reale ruolo del biotipo 1A nelle tossinfezioni e relative patologie nell'uomo. In tale contesto va posta attenzione sicuramente ai vegetali ready to eat e ad una attenta cottura delle preparazioni di carne.

C43

RISCHIO ALIMENTARE ASSOCIATO AL CONSUMO DI VEGETALI, ESPOSIZIONE A CEPPI ANTIMICROBICO-RESISTENTI E PESTICIDI

A. Castello¹, G. Lo Cascio¹, L. Pantano¹, A. Costa¹, G. Butera¹, G. Oliveri¹, R. Alduina², C. Ferraro², C. Cardamone¹

¹Istituto zooprofilattico sperimentale della Sicilia, Palermo; ²Dipartimento di scienze e tecnologie biologiche, chimiche e farmaceutiche (STEBICEF) Università degli Studi di Palermo, Italy

Contaminanti biologici e chimici rappresentano i fattori di rischio più comuni in tema di sicurezza alimentare. Inoltre l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) pone l'attenzione sulla diffusione di ceppi antimicrobico-resistenti (AMR) anche negli alimenti. Infatti il cibo può veicolare geni di antimicrobico-resistenza (ARG) al microbiota intestinale, con importanti implicazioni per la salute umana. Dati bibliografici evidenziano il ruolo del suolo quale serbatoio di batteri AMR e pesticidi, facilmente veicolabili dagli ortaggi poiché comunemente consumati crudi o in seguito a trattamenti blandi. Scopo di questo lavoro è stato valutare la presenza di contaminanti biologici e pesticidi in vegetali destinati al consumo umano commercializzati in Sicilia, verificare la diffusione di AMR tra i batteri isolati e caratterizzarne i ARG. 29 ortaggi (20 a foglia, 5 a frutto, 2 a bulbo e 2 a fiore) sono stati prelevati dai circuiti commerciali siciliani, mantenuti a 4°C ed analizzati entro 48 ore. I vegetali sono stati sottoposti ad esami microbiologici (ricerca di *Salmonella* spp, enumerazione di Enterobatteri, Enterococchi ed *Escherichia coli*) e chimici (ricerca di pesticidi mediante Cromatografia liquida o Gascromatografia con spettrometria di massa). In seguito ad identificazione biochimica in macro e micrometodo, gli stipti isolati sono stati sottoposti al test di sensibilità agli antimicrobici (Kirby-Bauer). La caratterizzazione dei ARG dei ceppi AMR è stata eseguita mediante PCR *end point* e successiva corsa elettroforetica su gel di agarosio. *Salmonella* spp non è stata rilevata in nessuno dei campioni analizzati, *E. coli* è stato rilevato in 1 campione, con carica pari a 1×10^2 ufc/g. Il 17.24% dei vegetali è risultato contaminato da enterococchi, con cariche comprese tra 3.6×10^1 ufc/g e 8.5×10^5 ufc/g, il 65.5% è risultato contaminato da enterobatteri, con cariche comprese tra 4×10^1 ufc/g e 3×10^5 ufc/g. Il 86.2% dei vegetali è risultato contaminato da ceppi resistenti ad almeno 1 dei 13 antimicrobici testati, per un totale di 53 ceppi isolati, di cui 10 multiresistenti (MDR). Le percentuali di resistenza più elevate sono state rilevate per ampicillina (94.2%), amoxicillina e acido clavulanico (61.54%), tetraciclina (23.1%) e kanamicina (19.2%). Nessuno dei ceppi isolati è risultato resistente ad imipenem e ciprofloxacina. Da 10 dei 12 ceppi resistenti alla tetraciclina è stato estratto il DNA per la ricerca dei geni di resistenza. *TetA* è stato rilevato in 2/10 ceppi testati (1 *E. coli* e 1 *K. pneumoniae*). La presenza di pesticidi è stata rilevata in 6/22 ortaggi testati, tutti a foglia. Lo stato igienico sanitario dei vegetali esaminati è risultato soddisfacente, infatti nessuno era contaminato da *Salmonella* spp e in un campione di lattuga è stata rilevata una carica bassa di *E. coli*, comune indicatore di contaminazione fecale. Gli ortaggi a foglia sono risultati più contaminati, probabilmente perché la loro morfologia e/o tipo di produzione favoriscono la colonizzazione e permanenza dei batteri del suolo sulle superfici fogliari. Un'alta percentuale di vegetali è risultata contaminata da batteri AMR, confermando l'importanza di un attento monitoraggio della loro presenza anche negli alimenti e la

necessità di strategie utili a contrastarne la diffusione. Da attenzione inoltre la presenza di pesticidi nel 27.3% dei vegetali testati, considerando che si tratta di ortaggi comunemente consumati crudi.

C44

UTILIZZO DOMESTICO DI SPUGNETTE DA CUCINA: VALUTAZIONE DEL RISCHIO MICROBIOLOGICO ASSOCIATO

F. Garofalo, A. De Lella, R. Nappi, A. Anzalone, A. Esposito, L. Biondi, A. Cutarelli, A. Fulgione, D. Nava, A.M.I. Montone

Istituto zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, Dipartimento coordinamento sicurezza alimentare, Portici (NA), Italy

L'ambiente domestico è riconosciuto come una delle maggiori fonti per la contaminazione dei cibi preparati in ambito familiare, con conseguente possibilità di elevato rischio di malattie a trasmissione alimentare (MTA). Numerosi studi effettuati per verificare il grado di contaminazione delle attrezzature, in particolare delle spugnette e di panni o spazzole utilizzate per la pulizia e detersione di stoviglie e superfici, hanno evidenziato la presenza di un elevato numero di batteri agenti di spoilage e talora anche patogeni, quali *Salmonella* e *Campylobacter*. Scopo di questo studio è valutare la presenza di microrganismi patogeni o responsabili di deterioramento alimentare nelle spugnette da cucina utilizzate in ambiente domestico, al fine di valutarne il ruolo nella trasmissione di MTA. Sono state analizzate 100 spugnette, provenienti dalle cucine di privati cittadini grazie alla collaborazione dei dipendenti dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, cui è stato richiesto di compilare un questionario inerente le abitudini di utilizzo della spugna. Tale questionario prevede una prima parte relativa all'anagrafica (es.: composizione del nucleo familiare, presenza di soggetti "fragili", conoscenze specifiche in materia di sicurezza alimentare ed igienicità della preparazione degli alimenti) seguita da domande sulle modalità di utilizzo e sanificazione delle spugne. Ogni spugna è stata preventivamente sottoposta a valutazione qualitativa da parte di due diversi operatori, che in base all'ispezione visiva hanno assegnato un punteggio relativamente a stato di usura, sporcizia e presenza di residui alimentari. Successivamente sono state effettuate analisi microbiologiche con le metodiche ISO accreditate presso il laboratorio, per la numerazione di *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Staphylococchi coagulasi positivi*, batteri anaerobi solfito-riduttori, *Pseudomonas*, lieviti e muffe; inoltre è stata indagata la presenza di *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Campylobacter* e *Cronobacter*. I risultati ottenuti hanno evidenziato la presenza di microrganismi contaminanti: nella quasi totalità dei campioni sono state riscontrate elevate cariche di *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* e lieviti, mentre non è stata rilevata la presenza di germi patogeni. Dunque, si può concludere che, sulla base dei dati ottenuti nel nostro lavoro, le spugnette non si possano considerare un vero e proprio pericolo per gli utilizzatori. Piuttosto sarebbe da valutare l'effettivo ruolo della spugna da cucina come una sorta di "riserva" di contaminazioni microbiologiche, probabilmente a causa del fatto che spesso sono lasciate umide garantendo un ambiente ottimale per la sopravvivenza batterica. Di fatto, il consumatore non sembra avere percezione del rischio connesso con un cattivo utilizzo di questo strumento di uso giornaliero nelle cucine delle nostre famiglie, sarebbe dunque auspicabile intervenire con idonee campagne informative per la popolazione.

C45

MONITORAGGIO DEI RESIDUI DI NDL-PCBS IN PRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE DI LARGO CONSUMO MEDIANTE TECNICHE ANALITICHE AD ELEVATA SENSIBILITÀ

M. Iammarino, F. Casamassima, A. Calitri, V. D'Amico, I. Della Rovere, M. Ingegno, M. Tomaiuolo, V. Nardelli

Istituto zooprofilattico sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italy

I policlorobifenili (PCBs) sono una classe di contaminanti organici di origine antropica caratterizzati da notevole stabilità chimica e tendenza al bioaccumulo. I PCBs più tossici e più simili alla corrispondente diossina sono conosciuti come “dioxin-like (DL)-PCBs”. I non dioxin-like (NDL)-PCBs, invece, sono meno tossici, ma generalmente più abbondanti come residui negli alimenti, tanto da essere utilizzati come indicatori del livello generale di contaminazione da PCB nelle filiere alimentari. Nel Reg. No. 1259/2011/CE sono stati definiti i limiti massimi consentiti per i NDL-PCBs, espressi come somma dei 6 congeneri, nelle diverse matrici alimentari. In questo studio sono descritti i risultati relativi ad un monitoraggio sulla presenza di NDL-PCBs in campioni di origine animale, prelevati ed analizzati nel triennio 2018/2020 nell'ambito dei controlli ufficiali. La preparazione del campione, eseguita con metodo interno validato ed accreditato, prevede l'estrazione con solventi organici, ottimizzata in base al contenuto lipidico ed alla tipologia di matrice esaminata, seguita dalla successiva purificazione con acido solforico ed ENVI-carb®. Il passaggio di clean-up prevede l'eluizione con n-esano su Bond/Elute-PCB. Per la determinazione del contenuto di grasso nei campioni alimentari è stata utilizzata una procedura ASE (Accelerated Solvent Extraction) validata e specifica per ogni singola matrice oggetto di indagine. La determinazione analitica è stata effettuata utilizzando il Gas Cromatografo Perkin-Elmer (modello Autosystem XL) con rivelatore a cattura di elettroni. I risultati vengono espressi come somma di tutti gli NDL-PCBs quantificati. Su un totale di 373 campioni suddivisi per categorie (molluschi bivalvi, pesce fresco, pesce trasformato, carne fresca e carne trasformata) è stata rilevata la presenza di NDL-PCBs (> LOQ) in 62 campioni, tutti con una concentrazione inferiore rispetto al relativo LMR. Tra i NDL-PCBs, il più quantificato è stato il PCB 153, mentre il meno presente è stato il PCB 28. La maggiore diffusione di residui di NDL-PCBs è stata riscontrata nel pesce fresco (30.77%) con valori somma dei 6 congeneri compresi tra 1.53 e 3.67 ng/g di prodotto fresco. La percentuale più bassa è stata registrata per la carne fresca (8.73%), tuttavia il valore somma medio riscontrato in questi campioni è il più elevato (4.16 ng/g) (Tabella 1). In particolare, la matrice “carne fresca” è l'unica nella quale sono stati quantificati tutti i 6 NDL-PCBs oggetto di indagine (Figura 1). È interessante sottolineare che su 28 campioni è stata rilevata la presenza di più di 1 singolo NDL-PCBs (Figura 2), fino ad un massimo di 4 PCBs quantificati in un campione di salmone affumicato. Dal monitoraggio descritto in questo studio emerge che il livello di contaminazione da NDL-PCBs nei principali prodotti di origine animale allo stato attuale non desta particolare preoccupazione, in quanto tutti i residui, quantificati nel 16.6% dei campioni analizzati, sono inferiori ai limiti previsti dalla Normativa vigente sugli alimenti. Tuttavia, considerata la tossicità ed il possibile bioaccumulo di tali contaminanti, è necessaria una costante ed intensa attività di monitoraggio che consenta di avere un'esatta conoscenza dei livelli di contaminazione da NDL-PCBs dei prodotti alimentari.

La partecipazione al Congresso AIVI 2022 è stata possibile grazie

al Ministero della Salute che ha finanziato il Progetto di Ricerca IZS PB 08/20 RC.

Tabella 1.

Risultati ottenuti analizzando 373 prodotti di origine animale per la ricerca di PCBs

Categoria	N° campioni analizzati	>LOQ	%	Range (ng/g)	Media (ng/g)	LMR (ng/g)
Molluschi Bivalvi	101	16	15.84	2.41-8.68	3.59	75
Pesce fresco	65	20	30.77	1.53-3.67	2.36	75
Pesce trasformato	39	8	20.51	1.53-6.58	2.76	75
Carne fresca	126	11	8.73	2.12-13.82	4.16	40
Carne trasformata	42	7	16.67	1.72-3.88	2.89	40
TOTALI	373	62	16.62	1.53-13.82	3.11	

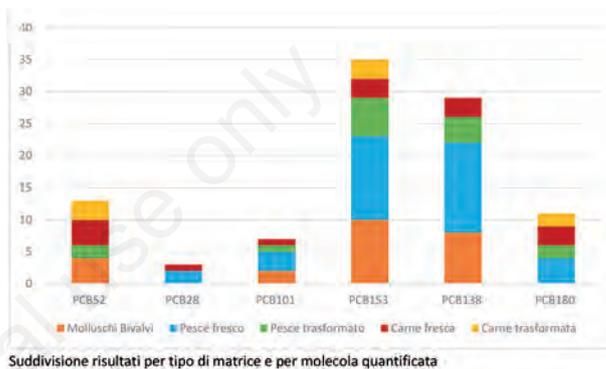


Figura 1.

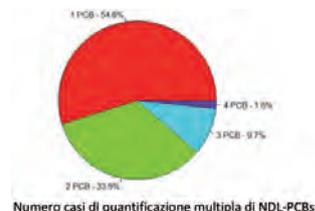


Figura 2.

C46

LISTERIA MONOCYTOGENES: FENOMENI DI “PERSISTENZA” E POTENZIALE IMPATTO SULLA SICUREZZA ALIMENTARE

L. Nalbone¹, G. Sorrentino¹, F. Giarratana^{1,2}, A. Schioppa², G. Ziino^{1,2}, A. Giuffrida^{1,2}

¹Dipartimento di scienze veterinarie, Università degli Studi di Messina, Polo Universitario dell'Annunziata, Messina; ²Riconnexia s.r.l.s., spin-off dell'Università degli Studi di Messina, polo universitario dell'Annunziata, Messina, Italy

Il fenomeno della “persistenza batterica” fa riferimento ad una sottopopolazione che, quando esposta ad un trattamento battericida, va incontro a morte ad una velocità inferiore rispetto al resto della popolazione da cui si è originata. La formazione di batteri persistenti avviene a seguito di uno stimolo stressante o, stocasticamente, in assenza di segnali esterni. Obiettivo del presente studio è valutare

in vitro la formazione di batteri persistenti in un ceppo di *Listeria monocytogenes* in seguito all'esposizione ad una elevata concentrazione di NaCl (stress osmotico). Per fare ciò è stata valutata, mediante l'impiego del software ScanLag, la distribuzione della durata della fase di latenza delle colonie di *L. monocytogenes* ATCC 7644 cresciute in TSYEB +6% NaCl. Lo stesso tipo di valutazione è stata effettuata anche su un gruppo controllo ottenuto dalla crescita dello stesso ceppo in TSYEB. In particolare, le brodocolture, al raggiungimento della fase stazionaria, venivano seminate in piastre di ALOA e poste su di uno scanner all'interno di un incubatore a 37°C. Le piastre venivano scannerizzate ogni 20' per 4 giorni e le immagini acquisite venivano processate mediante specifici scripts costruiti su MatLab per valutare i tempi di comparsa di ciascuna colonia. Le stesse brodocolture, dopo opportune diluizioni al fine di riequilibrare la concentrazione di NaCl, venivano sottoposte ad un trattamento termico a 51°C e le curve di morte ottenute venivano parametrizzate mediante il sistema GinaFit. I risultati evidenziavano come la fase di latenza delle colonie del ceppo esposto a stress osmotico fosse mediamente più lunga rispetto a quella del gruppo controllo. Inoltre, per il 31,40% delle colonie del campione stressato osmoticamente, l'allungamento era tale da potere supporre la presenza di batteri persistenti. L'analisi delle curve di morte termica mediante i modelli predittivi di GinaFit ha permesso di evidenziare come il modello con "spalla" e "coda" consentisse un migliore fitting delle curve di decremento della popolazione sottoposta a stress osmotico rispetto a quelle della popolazione controllo il cui andamento era, invece, sostanzialmente lineare. Dal presente studio è emerso che l'esposizione di un ceppo di *L. monocytogenes* al NaCl può indurre la formazione di batteri persistenti in grado di sopravvivere più a lungo a certi trattamenti termici. Infatti, è stato possibile osservare due dei segni distintivi tipici dei batteri persistenti: i) l'allungamento della fase di latenza che si verifica nel momento in cui lo stimolo stressante (NaCl) viene rimosso e la popolazione viene trapiantata in un terreno di coltura fresco; ii) la curva di morte bifasica, segno che all'interno di una popolazione esposta ad un trattamento battericida sono presenti due sottopopolazione che muoiono a velocità differenti. Potremmo ipotizzare che le risposte adattative ad uno stimolo stressante, come la crescita in ambiente salato, possano avere indotto una protezione crociata nei confronti del trattamento termico. L'allungamento della fase di latenza desta preoccupazione in quanto il tempo di incubazione (48h) previsto dalla ISO per la conta di *L. monocytogenes* potrebbe non essere sufficiente ad individuare le eventuali colonie presenti nella coda della fase di latenza. Ulteriori preoccupazioni igienico-sanitarie potrebbero sussistere in merito alla formazione di sub-popolazioni termoresistenti in seguito a stressori subletali come quelli da noi esaminati.

C47

STUDIO PRELIMINARE SULL'ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE ED ANTIMICROBICA DI DUE MIELI ITALIANI DI ELICRISO (*HELICHRYSUM ITALICUM*)

S. Vitalini¹, M. Iriti², S. Panseri³, A. Zuorro⁴, V. Leoni⁴, L. Vallone³

¹Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università di Milano; ²Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche e Odontoiatriche, Università di Milano; ³Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali, Università di Milano; ⁴Dipartimento di Ingegneria chimica, materiali, ambiente, Università Sapienza, Roma; ⁵Centro di Ricerca Ge.S.Di.Mont. Polo UNIMONT, Unimi, Edolo (BS), Italy

L'obiettivo della ricerca è stato valutare le potenzialità di due mieli di elicriso [*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don] prodotti in Italia. Lo studio ha previsto la determinazione delle sostanze volatili emesse dai mieli, la valutazione della loro attività antiossidante e antimicrobica (*in vitro*). La determinazione delle sostanze volatili è stata condotta mediante tecnica SPME e GC/MS, secondo la metodica di Panseri et al., 2013; la valutazione dell'attività antiossidante è stata condotta attraverso i saggi ABTS e DPPH, secondo Vitalini et al., 2013. Le proprietà antibatteriche sono state studiate nei confronti di microrganismi ATCC a concentrazione nota; più precisamente sono stati utilizzati: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*. Inoltre sono state saggiate le proprietà antimicotiche su *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides* (10²). La prova, eseguita in triplicato, è stata effettuata con saggio di diffusione in terreno solido TSA (Tryptone Soy Agar) (tecnica Kirby-Bauer) per i batteri e Sabouraud Dextrose Agar (SDA) per i miceti. I mieli sono stati valutati al 100%, al 50% e al 25% (v/v) in acqua. Per quanto concerne le sostanze volatili, sono stati identificati complessivamente nei due campioni più di 100 composti appartenenti alle seguenti classi chimiche: alcoli, aldeidi acidi carbossilici, composti solforati e terpeni. Gli acidi carbossilici sono in stretta correlazione con le caratteristiche sensoriali dei mieli, in particolare con note speziate fino al rancido. Sostanze terpeniche quali linalolo, linalolo ossido -cis e -trans e lilla aldeide rappresentano importanti composti coinvolti nell'interazione ecologica tra essenze botaniche ed impollinatori. Relativamente all'attività antiossidante, non sono state misurate differenze significative tra i due mieli, indipendentemente dal saggio utilizzato, così come il contenuto di polifenoli e flavonoidi totali. L'attività antibatterica è comprovata dalla comparsa di aloni di inibizione in corrispondenza dei dischetti imbibiti dai mieli oggetto dello studio. Tuttavia, i batteri hanno mostrato differente sensibilità: è stata inibita in maggior misura la crescita di *E. coli* e di *S. typhimurium*, più resistente invece si è rivelato *S. aureus*. L'attività antimicotica è stata nulla sui due ceppi testati, a prescindere dal miele e dalla sua concentrazione: sia *A. flavus* che *F. verticillioides* si sono sviluppati sui terreni di coltura similmente ai rispettivi controlli. I risultati ottenuti dalla caratterizzazione chimica dei mieli di elicriso hanno confermato la loro ricchezza in termini di composti volatili responsabili dell'aroma e delle proprietà biologiche di tale matrice alimentare. La mancanza di una marcata differenza tra le attività antiossidanti dei mieli potrebbe essere imputabile ad una minor diversità in termini di componenti non volatili presenti nella matrice e maggiormente responsabili dell'attività antiossidante, come dimostrato dalla minima differenza quantitativa tra polifenoli e flavonoidi totali dosati nei mieli. La differente attività batterica dei prodotti testati potrebbe essere dovuta alla loro diversa origine e, di conseguenza, alla loro differente componente volatile e non, sebbene quest'ultima non sia stata caratterizzata. L'assenza di attività antifungina indicherebbe una minor sensibilità della cellula fungina rispetto a quella procariote batterica, probabilmente a causa di differenze strutturali.

Le nuove sfide del Veterinario Igienista tra i pericoli emergenti e il ruolo delle Autorità Competenti nei controlli ufficiali

Teramo 22-23-24 Settembre 2022



SESSIONE POSTER

Venerdì 23 settembre 2022

P01

APPROCCIO INNOVATIVO PER LA RIVELAZIONE DELL'USO DI ANTIBIOTICI NEI SUINI

M.P. Fabrice¹, A. Caligiani¹, G.L. Alborali², F. Scali², S. De Luca¹, V. Lolli¹, M.O. Varrà¹, E. Zanardi¹

¹Dipartimento di scienze degli alimenti e del farmaco, Università di Parma;

²Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna "Bruno Ubertini", Brescia, Italy

Il presente studio introduce un approccio innovativo volto alla ricerca di nuovi strumenti di valutazione dell'autenticità e di tracciabilità della filiera suina relativamente ai claim riportati sull'etichetta della carne, es. "senza antibiotici". In tale contesto il monitoraggio dei residui di antibiotici effettuato nell'ambito del Piano Nazionale Residui non è pertinente. Pertanto, a tale scopo un approccio metabolomico untargeted, basato sull'uso della spettroscopia NMR (Nuclear Magnetic Resonance), è stato impiegato per valutare differenze metaboliche e ricercare metaboliti correlati alla somministrazione di antibiotici in suini con l'obiettivo di identificare possibili biomarker. Il disegno sperimentale ha considerato 41 suini pesanti allevati in 4 diverse aziende situate nel Nord Italia e ripartiti in un gruppo di animali di controllo (22 capi) ed un gruppo di animali trattati (19 capi) in base alla DDDAit_{biomass} ricavata dalla piattaforma Classyfarm riferita all'anno 2020. In particolare, le DDDAit_{biomass} erano 16,3 and 37,4 giorni/animale/anno per i suini provenienti dall'azienda 1 e 2 (gruppo trattati) e 0,38 e 0,14 per quelli appartenenti alle aziende 3 e 4 (gruppo controllo). In fase di campionamento si è proceduto al prelievo del fegato in quanto organo metabolicamente coinvolto in numerosi processi biologici. Adottando un protocollo operativo a due fasi, 100 mg di fegato sono stati miscelati con una soluzione metanolo/cloroformio (2:1, v/v). Dopo sonicazione in un bagno ghiaccio-acqua, un egual volume di cloroformio ed acqua è stato aggiunto ai campioni che, a seguire, sono stati centrifugati per ottimizzare la separazione del sistema bifasico. Le due fasi, polare (superiore) e apolare (inferiore), sono state trasferite separatamente in due provette distinte ed evaporate con flusso di azoto. Gli estratti ottenuti sono stati risospesi con solventi deuterati: metanolo e cloroformio, per la frazione apolare, ed un tampone fosfato in acqua deuterata e standard interno (TSP) per quella polare. Gli spettri, acquisiti utilizzando uno spettrometro NMR

operante a 600,17 MHz, sono stati corretti (per la fase e la linea di base) e calibrati. I dataset sono stati generati considerando i valori di area integrata dei segnali presenti in un intervallo spettrale compreso tra 0-9 ppm. In particolare, sono stati ottenuti due dataset distinti, uno per la frazione polare ed uno per quella apolare, costituiti da 3444 e 3116 valori di area, rispettivamente. Entrambi i dataset sono stati sottoposti ad analisi statistica multivariata mediante Principal Component Analysis (PCA), e Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis (OPLS-DA). Entrambe le rielaborazioni statistiche hanno evidenziato una netta separazione tra i due gruppi di suini ascrivibile alle variazioni relative all'abbondanza di metaboliti. Tali evidenze suggeriscono differenze metaboliche tra il gruppo di suini trattato con antibiotici ed il gruppo controllo. In particolare, 17 e 11 segnali NMR appartenenti alla frazione polare e apolare, rispettivamente, hanno mostrato un effetto discriminante significativo tra i due gruppi e sono attualmente oggetto di identificazione ed interpretazione biologica. I risultati ottenuti in questa prima fase dello studio rappresentano un elevato potenziale per l'identificazione di biomarcatori di trattamenti antibiotici utili per l'autenticazione e la tracciabilità nella filiera suina ed aprono ampie prospettive di ricerca.

P02

DALLE PROCEDURE DOCUMENTATE ALLE SCHEDE PROCESSO PER LA CORRETTA ESECUZIONE DEI CONTROLLI UFFICIALI AI SENSI DEL REGOLAMENTO UE 2017/625

S. Antoci¹, C. Villani¹, M. Tardella², G. Di Serafino¹, G. Parisciani¹, R. Piccioni¹

¹Servizio veterinario di igiene degli alimenti di origine animale, Dipartimento di prevenzione, azienda sanitaria locale Teramo; ²UOC igiene degli alimenti di origine animale, Dipartimento di prevenzione, azienda sanitaria unica regionale Marche, Area Vasta 4 Fermo, Italy

I controlli ufficiali (CU) delle Autorità competenti (AC) sono effettuati secondo procedure documentate ai sensi del Regolamento UE 2017/625. Il Servizio Veterinario di Igiene degli Alimenti di Origine Animale (SVIAOA) dell'Azienda Sanitaria Locale di Teramo è certificato UNI EN ISO 9001:2015 ed utilizza il sistema operativo Talete Web, una banca documentale affidabile che ha reso possibile la dematerializzazione dell'apparato documentale e l'ingegnerizzazione del servizio. Il campo operativo dello SVIAOA è stato ampliato dalle procedure documentate alle schede processo, al fine di tenere sotto controllo tutti gli aspetti della propria attività, garantendo la riproducibilità delle performance e il miglioramento continuo degli standard qualitativi erogati. Una procedura documentata è un insieme di istruzioni scritte intese a raggiungere un'uniformità di esecuzione in relazione a

una funzione o a una norma specifica con lo scopo di raggiungere un obiettivo, mentre un processo è un insieme di attività correlate o interagenti che trasformano un input in un output. La scheda processo, seguendo i riferimenti della norma UNI EN ISO 9001:2015 prevede l'individuazione dei principali fattori di rischio ed opportunità derivanti dai CU al fine di minimizzare i primi e massimizzare gli altri, identificando le attività svolte dall'AC in maniera schematizzata e semplificata. Per aumentarne la fruibilità è stata elaborata ed inserita apposita modulistica nel sistema operativo Talete Web (istruzioni operative e moduli da utilizzare durante la fase operativa). I risultati attesi dall'utilizzo delle schede processo vengono valutati su base annua tramite indicatori di performance alimentati da risultanze di audit, riscontro di non conformità, reclami. Per il presente lavoro è stata valutata la scheda processo della procedura operativa "Controllo ufficiale carni di cinghiale destinate al consumo domestico privato o alla cessione in ambito locale". Input: campionamento per la ricerca di Trichine. Output: garanzia di conformità ai requisiti della normativa vigente. Tra i fattori di rischio sono emersi punti di debolezza quali errori di campionamento e mancata comunicazione dei risultati all'Operatore del Settore Alimentare (OSA), gestiti con progettazione e realizzazione di attività formative per lo sviluppo professionale continuo. Nelle opportunità tra i punti di forza l'ottimizzazione del lavoro dei dipendenti. Le attività svolte sono state le seguenti: fase di campionamento, diretto se svolto dall'AC o indiretto se svolto dal cacciatore formato; fase di analisi: invio dei campioni al laboratorio di riferimento e valutazione dell'esito; fase di controllo della distribuzione: azioni successive al rapporto di analisi e valutazione della conformità alla normativa vigente per cessione diretta o commercializzazione. Dopo il ricevimento dell'esito delle analisi di laboratorio, immediatamente in seguito a riscontro di positività alla ricerca di Trichine viene attuata l'azione correttiva ai sensi dell'articolo 138 del Regolamento UE 2017/625 che prevede il richiamo, ritiro e distruzione delle carni da notificare al cacciatore o all'OSA cui sono state cedute. Nel caso non sia possibile dimostrare la correlazione tra il campione positivo e la singola carcassa, le misure sono estese a tutti i cinghiali abbattuti nella stessa battuta di caccia dal cacciatore/squadra di caccia dai quali potrebbe essere stato prelevato il campione.

P03

SVILUPPO E VALIDAZIONE DI UN METODO RAPIDO PER L'IDENTIFICAZIONE DI CARNE SEPARATA MECCANICAMENTE MEDIANTE CROMATOGRAFIA IONICA CON RIVELAZIONE CONDUTTIVIMETRICA

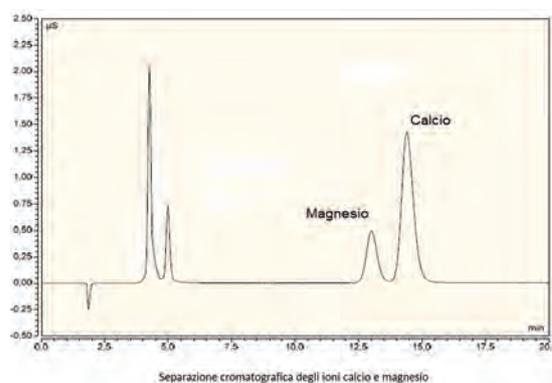
M. Iammarino¹, O. Miedico¹, T. D'Amore¹, G. Berardi¹, R. Accettulli¹, R. Dalipi², E. Sangiorgi²

¹Istituto zooprofilattico sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia;

²Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini", Brescia, Italy

Il Panel sui rischi biologici (BIOHAZ) dell'EFSA, in una recente opinione scientifica ha sottolineato come l'identificazione di un prodotto di carne ottenuto da separazione meccanica (CSM) ha importanza sia dal punto di vista della qualità che della sicurezza alimentare. Lo stesso Panel ha sottolineato la necessità di dover identificare e classificare i parametri che possono essere utili per identificare tipi diversi di CSM, in quanto i vari indici sinora presi in considerazione (es. concentrazione di calcio) non risultano pienamente affidabili ed accurati. Nel corso degli Studi di caratterizzazione delle CSM è emerso che, oltre al calcio, anche il magnesio è un elemento caratteristico per la

discriminazione con una carne non separata meccanicamente, in quanto la separazione meccanica causa un decremento significativo della concentrazione di questo metallo. La determinazione di Ca e Mg nelle carni non è particolarmente complessa e non richiede apparecchiature particolarmente sofisticate (come può risultare la spettrometria ICP-MS). Infatti, uno spettrofotometro ad assorbimento atomico o un cromatografo ionico sono già sufficienti per eseguire tale determinazione. In questo lavoro è stato sviluppato un metodo di cromatografia ionica a conducibilità soppressa, che ha impiegato un cromatografo ionico ThermoFisher ICS 6000. Un grammo di campione omogeneizzato viene mineralizzato mediante una procedura standard, normata per le analisi degli elementi in traccia (microonde). Il mineralizzato viene diluito (1:20) in tampone acetato 0.1M a pH 5, quindi 25- μ L sono iniettati nel sistema, impostato in modalità scambio cationico, ovvero utilizzando la colonna IonPac[®] CS17 eluita in modalità isocratica con acido metansolfonico 6 mM (durata della corsa 25 min). Il tempo complessivo per l'esecuzione di una analisi in doppio, dal momento dell'accettazione del campione in laboratorio fino all'emissione del referto finale non supera le 3 ore. Al fine di validare questo approccio analitico, sono stati analizzati 100 campioni (50 CSM e 50 NO-CSM). Le concentrazioni di Ca e Mg sono state confrontate mediante F-test, inoltre sono stati valutati diversi altri indici (Figura 1). Tra questi, il parametro [Ca - Mg] è risultato il più significativo al Test F, per cui la differenza tra [Ca] e [Mg] è stata considerata per validare il metodo. Questo parametro è stato denominato MSM_{index} . Al fine di identificare un valore soglia di MSM_{index} utile per discriminare le CSM, il valore medio quantificato nei campioni senza CSM (200.5 mg kg^{-1}) è stato addizionato di 3 (63.4 mg kg^{-1}) ottenendo un "cut-off" finale pari a 390 mg kg^{-1} . La validazione è stata quindi eseguita analizzando campioni di carne addizionati con livelli crescenti di CSM (da 0 a 100%) ottenuta sia a bassa che ad alta pressione. Il valore soglia 390 mg kg^{-1} si è mostrato attendibile per l'identificazione di CSM in prodotti carnei fino a percentuali di aggiunta pari al 25%, che può essere di fatto considerato il limite di quantificazione del metodo. La determinazione analitica simultanea di calcio e magnesio nelle carni mediante cromatografia ionica con rivelazione conduttimetrica e la successiva stima della differenza [Ca - Mg] (MSM_{index}) può essere impiegata con buoni risultati nell'ambito dei controlli ufficiali volti all'identificazione di CSM in prodotti carnei. Valori di MSM_{index} superiori a 390 mg kg^{-1} sono da attribuire a prodotti carnei contenenti CSM a percentuali superiori al 25%.



Metallo	N° campioni analizzati	Concentrazione media [range] (mg/kg)	Deviazione standard	[Ca-Mg] media ± SD	[Ca/Mg] media ± SD
Ca	50 CSM	758.9** [513.6-1244.3]	207.4	CSM: 658.4 ± 200.3** NO-CSM: 200.5 ± 63.4**	CSM: 7.9 ± 2.2 NO-CSM: 2.7 ± 0.8
Ca	50 NO-CSM	323.7** [274.8-404.8]	50.6		
Mg	50 CSM	100.4** [58.1-201.5]	28.7		
Mg	50 NO-CSM	133.2** [79.5-239.2]	34.2		

Concentrazione di calcio e magnesio quantificate in 100 prodotti carnei.
* F-test significativo (p < 0.01)
** F-test significativo (p < 0.0001)

Figura 1.

P04

MESSA A PUNTO DI UNA METODICA DI PCR SPECIE SPECIFICA MULTIPLEX PER UNA RAPIDA ED AFFIDABILE IDENTIFICAZIONE DI DNA DI BUFALA, VACCA, PECORA E CAPRA IN PRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE

A. Fulgione¹, A. Anzalone¹, A. Esposito¹, L. Biondi¹, G. Cosenza², D. Nava¹

¹Istituto zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, Dipartimento coordinamento di sicurezza alimentare, Portici (NA); ²Dipartimento di agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici (NA), Italy

Una delle frodi alimentari più diffusa nel settore lattiero caseario è la produzione di mozzarella di bufala campana, utilizzando latte bufalino addizionato con latte di altre specie (soprattutto quello bovino). La metodica di analisi ufficiale per l'identificazione specie-specifica del latte utilizzato, come riportato nel "Regolamento UE No.150/2018 (i.e. focalizzazione isoelettrica), è laboriosa e presenta alcune limitazioni. In base a queste considerazioni ed alle ricerche bibliografiche, si è evinto che un approccio molecolare potrebbe essere utile per garantire l'autenticità dell'alimento. Attualmente esistono diverse tecniche di biologia molecolare (Polymerase Chain Reaction (PCR), PCR-RFLP, quantitative Real Time PCR, etc), atte a rilevare e/o quantizzare la presenza di DNA di diverse specie in campioni di latte e derivati. Tuttavia, queste richiedono l'impiego di diverse reazioni di amplificazione, step aggiuntivi (digestione con enzimi di restrizione) o utilizzo di probe. L'approccio molecolare proposto ha previsto la messa a punto, attraverso l'individuazione di marcatori genetici specie-specifici (delezioni/inserzioni), di una metodica di SS-PCR (Species-Specific PCR) multiplex sensibile e di rapida esecuzione, in grado di discriminare in una unica reazione l'origine del latte analizzato di bufala mediterranea, bovino, ovino e caprino. La scelta di tali tipologie di mutazioni nasce dall'osservazione che, sebbene i polimorfismi a singolo nucleotide siano i fenomeni mutazionali più frequenti, meno si prestano al disegno di primer efficienti e specifici, rispetto a mutazioni più complesse e stabili quali delezioni/inserzioni di più nucleotidi. Il disegno sperimentale ha previsto l'individuazione di marcatori specifici per le 4 specie (bufala mediterranea, bovina, ovina e caprina) e la messa a punto di una metodica di SS-PCR multiplex. I geni individuati sono stati: il gene codificante la Miostatina (MSTN) per bovino, quello del recettore della Prolattina (PRLR) per bufala mediterranea, quello della caseina α S1 (CSN1S1) per capra e quello della caseina α S2 (CSN1S2) per pecora. Le dimensioni degli ampliconi erano di 144 bp (PRLR); 162 bp (CSN1S2); 183 bp (CSN1S1) e 211 bp (MSTN). Lo studio ha previsto l'analisi di 20 campioni di DNA di ciascuna specie, estratti da altrettanti campioni di latte. Il primo step ha riguardato la messa a punto di protocolli di PCR con l'utilizzo di coppie di primer specifici per ciascuna specie, al fine di validare la specificità dei marcatori individuati. Successivamente è stato ottimizzato un protocollo di SS-PCR multiplex che ha previsto una mix delle 4 coppie di primer e soluzioni binarie e quaternarie di DNA provenienti dalle diverse specie. I risultati hanno evidenziato la capacità della metodica proposta di discriminare le quattro specie di latte tra loro quando sono da sole o quando sono in miscele binarie e quaternarie. La metodica di analisi proposta è rapida, economica, di facile esecuzione e meno laboriosa rispetto agli altri metodi. Fase successiva prevederà l'esecuzione della SS-PCR multiplex su campioni di DNA estratti da mozzarella di bufala addizionati e non con latte bovino.

Questo progetto è stato finanziato dal Ministero dell'Università e della Ricerca (Project number PON01_00486 GENOBU).

P05

REPORT SULLA PRESENZA DI SALMONELLA SPP. E CAMPYLOBACTER SPP. NELLA CARNE FRESCA COMMERCIALIZZATA IN ITALIA

C. Corradini, V. Russini, G. Migliore, B.M. Varcasia, M.L. De Marchis, P. De Santis, S. Lovari, T. Bogdanova, T. Bossù, S. Bilei

Direzione operativa di microbiologia degli alimenti, Istituto zooprofilattico sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri" (IZSLT), Roma, Italy

Scopo: Salmonella spp. e Campylobacter spp. sono gli agenti enteropatogeni più comuni di origine alimentare e rappresentano un rischio per bambini, anziani e pazienti immunocompromessi. In questo studio sono riportati i dati della prevalenza e della caratterizzazione di ceppi di Salmonella spp. in campioni di carni avicole, bovine e suine commercializzate in Italia tra il 2015 e il 2019 e prelevati in occasione del Piano di monitoraggio dell'antimicrobico resistenza (Decisione 2013/652/CE). Sono inoltre presentati i dati di prevalenza e caratterizzazione di ceppi di Campylobacter spp. isolati da campioni di carni avicole raccolti nel 2016 e nel 2018. **Metodi:** I campioni di carni avicole (pollo e tacchino), suine e bovine commercializzate in Italia sono stati raccolti in anni alterni dalle Autorità Sanitarie Locali su tutto il territorio nazionale. La ricerca di Salmonella spp. è stata effettuata con test di screening PCR e confermata con metodi culturali secondo gli standard operativi ISO 6579. I ceppi di Salmonella spp. isolati sono stati analizzati per l'identificazione del sierotipo mediante sieroaagglutinazione rapida. La ricerca di Campylobacter spp. è stata condotta come riportato nella ISO 10272 e l'identificazione di specie è stata accertata mediante un pannello di test PCR che identifica le specie C. coli, C. jejuni, C. lari, C. upsaliensis e C. hyointestinalis. **Risultati:** La prevalenza di Salmonella spp. è risultata in pollo e tacchino rispettivamente pari a 1.31% (4/306) e 0% (0/273) nel 2016, 7.89% (24/304) e 2.33% (7/300) nel 2018, 14.4% (37/257) e 3.59% (9/251) nel 2020. Salmonella spp. non è mai stata rilevata in carne bovina, ma isolata nell'1.05% (3/287) dei campioni di carne suina nel 2015, 1.98% (5/253) nel 2017 e 1.74% (5/287) nel 2019. Nella carne di pollo sono stati identificati un totale di 9 sierotipi diversi, tra i quali i più comuni risultano essere S. Infantis (70.76%) e S. Bredeney (16.92%). Nella carne di tacchino il sierotipo prevalente è S. Infantis (18.75%) su un totale di 10 sierotipi diversi identificati. Nella carne di maiale gli unici sierotipi isolati sono stati S. Rissen (41%), S. Derby (33%) e S. Typhimurium variante monofasica (16.66%). La prevalenza di Campylobacter spp. è risultata del 4.25% (13/306) nei campioni di carne di pollo e del 0.73% (2/272) nei campioni di carne di tacchino nel 2016, aumentando rispettivamente al 17% (17/100) e 1.06% (1/94) nel 2018. Sono state rilevate frequenze simili per le due specie identificate, C. coli e C. jejuni. **Conclusioni:** I risultati confermano come le carni avicole rappresentino l'origine più rilevante per i patogeni Salmonella e Campylobacter. Nonostante l'adozione di misure di biosicurezza atte a limitare l'ingresso negli allevamenti di salmonelle c.d. rilevanti (S. Enteritidis, S. Typhimurium e la sua variante monofasica), la carne cruda o poco cotta continua a rappresentare un rischio per il consumatore. Studi di questo tipo, che identificano la prevalenza e la caratterizzazione dei patogeni negli alimenti, possono essere uno strumento utile per impostare piani di monitoraggio, identificare le priorità per gli interventi sulla sicurezza alimentare e la comunicazione del rischio. La presenza ancora rilevante dei patogeni Salmonella e Campylobacter indagati conferma la necessità di implementare e rafforzare l'efficacia della comunicazione del rischio alla popolazione da parte degli enti di sanità pubblica e degli stakeholder per aumentarne la consapevolezza e la mitigazione.

P06

ISPEZIONE DELLE CARNI SUINE ED EFFETTI SULLE PATOLOGIE A MINOR IMPATTO SULLA SALUTE

C. Villani, S. Antoci, R. Piccioni

Servizio veterinario di igiene degli alimenti di origine animale, Dipartimento di prevenzione, azienda sanitaria locale Teramo, Italy

L'ispezione post-mortem assicura l'idoneità al consumo delle carni. Ai sensi del Regolamento UE 219/2014, la tecnica ispettiva delle carcasse suine è divenuta esclusivamente visiva, per ridurre cross-contaminazioni e diffusione di agenti zoonotici. Tuttavia, se comparata a palpazione ed incisione, la tecnica visiva è caratterizzata da ridotta sensibilità, potendo compromettere l'individuazione di patologie a basso impatto sulla salute umana. Lo scopo del lavoro è quello di valutare l'efficacia del metodo visivo nell'evidenziare lesioni epatiche e polmonari considerate a basso impatto. È stata inoltre valutata l'esclusione dal consumo in seguito al riscontro di patologie o al mancato rispetto dei criteri igienici. L'analisi è stata effettuata dal 04/04/2011 al 30/04/2017 su 7.764 suini macellati presso uno stabilimento di macellazione della Provincia di Teramo, utilizzando un modello di studio quasi-sperimentale con due gruppi di controllo non equivalenti: carcasse bovine e ovine. I gruppi di controllo sono funzionali al monitoraggio delle variabili di confondimento e alla valutazione dell'impatto del cambiamento delle tecniche ispettive. Il modello di studio si è avvalso del test X2 di significatività statistica per variabili binarie: con p-value <0.05 si rifiuta l'ipotesi nulla, <0.01 statisticamente significativo. La prevalenza di lesioni epatiche e polmonari è stata confrontata prima e dopo l'entrata in vigore del Regolamento UE 219/2014 il 01/06/2014. Per le analisi statistiche è stata utilizzata la versione 14.0 del software STATA (Stata Corporation, College Station, Texas). Le carcasse suine hanno presentato una riduzione statisticamente significativa (p-value <0,0001) della diagnosi di patologie epatiche (-59%) e polmonari (-38.5%). Le carcasse bovine non hanno evidenziate significative variazioni né di patologie epatiche (p-value 0.131) né polmonari (p-value 0.550). Le carcasse ovine hanno riscontrato significative riduzioni (p-value <0.0001) delle lesioni epatiche (-51%) e polmonari (-48%) attribuibili a variabili indipendenti alle tecniche ispettive quali migliori condizioni igieniche di allevamento e standard di biosicurezza. In riferimento all'idoneità degli organi, l'esclusione dei polmoni suini ha registrato un significativo incremento prettamente relativo alla suzione di acqua di scottatura (p-value <0.0001); per i bovini non si sono evidenziate variazioni significative (p-value 0.064), al contrario degli ovini (p-value <0.0001). Nonostante la natura dello studio quasi-sperimentale non consenta una chiara associazione causale tra i cambiamenti della tecnica ispettiva e la ridotta sensibilità diagnostica, l'ipotesi dello studio è ampiamente plausibile in quanto l'elevato numero di carcasse analizzate fornisce evidenze quantitative in supporto. Sebbene l'assenza di randomizzazione esponga ad incertezze di misurazione, quali errori sistematici e bias di confondimento, il bias di selezione è stato controllato tramite il metodo censorio, e quello di misurazione tramite restrizione. Per monitorare i bias del processo di analisi e gli errori di classificazione differenziale, le anomalie del quadro anatomico non sono state classificate come casi se derivanti da errori di macellazione. Seppure in base alle stime di prevalenza una riduzione della diagnosi di tali patologie sia considerata accettabile, le evidenze acquisite creano le premesse per ulteriori dimostrazioni tramite studi sperimentali con maggiore validità intrinseca.

P07

VALUTAZIONE DELLA PRESENZA DI EPATITE E NEI SUINI MACELLATI NELLA REGIONE SICILIAP. Lorusso¹, A. Pandiscia¹, E. Bonerba¹, G. Bozzo¹, C. Alfano¹, M.G. Tantillo², V. Terio¹

¹Dipartimento di medicina veterinaria, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari; ²Dipartimento interdisciplinare di medicina, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italy

L'agente eziologico di una delle malattie a trasmissione oro-fecale è l'epatite E, che negli ultimi dieci anni ha causato nell'UE più di 21.000 casi clinici acuti con 28 decessi. Tuttavia, il numero dei casi segnalati risulta essere potenzialmente sottostimato poiché l'infezione nell'uomo non è notificata in tutti gli Stati Membri e i piani di sorveglianza attualmente in essere non rispettano tutti gli stessi protocolli operativi. In Europa le infezioni sostenute da HEV nell'uomo sono spesso associate al genotipo HEV-3, il quale è largamente circolante nei suidi, considerati i principali serbatoi. L'obiettivo del lavoro è stato valutare la presenza di HEV in suini macellati nella regione Sicilia dai quali sono stati prelevati 120 campioni di parenchima epatico e sono stati effettuati 81 tamponi rettali. L'RNA virale è stato evidenziato mediante touchdown RT-PCR e successiva touchdown hemi-nested PCR. I campioni positivi sono stati sottoposti a genotipizzazione. I risultati ottenuti hanno evidenziato la presenza di RNA dell'HEV nel 17,5% dei campioni di parenchima epatico. Soltanto in un suino il tampone rettale è risultato positivo all'analisi biomolecolare ma non al corrispondente campione di parenchima epatico suggerendo che l'animale avesse superato la fase di malattia e fosse nella fase di escrezione. I campioni positivi sono risultati appartenenti al genotipo 3 e al sottotipo 3c nella percentuale dell'87,5%. In considerazione dell'utilizzo di fegato e di carne di suino per la lavorazione di prodotti di salumeria, i risultati evidenziano una possibile trasmissione dell'HEV dai suini all'uomo. I pochi dati scientifici disponibili sulla diffusione dell'HEV non consentono di stabilire una puntuale correlazione tra i sierotipi animali e umani circolanti e quali siano gli alimenti maggiormente coinvolti. Pertanto studi futuri focalizzeranno l'attenzione sulla presenza dell'HEV eventualmente riscontrato nei prodotti di salumeria e sulla capacità infettante delle particelle virali mediante metodi di viability PCR.

P08

VALUTAZIONE DELLA FREQUENZA DI LESIONI GASTRICHE IN SUINI PESANTI AL MACELLO E STUDIO DELLA LORO ASSOCIAZIONE CON IL CONSUMO DI FARMACI ANTINFIAMMATORIS. Ghidini¹, S. De Luca^{1,2}, F. Scali³, C. Romeo³, F. Guadagno⁴, M.O. Varrà¹, M. Conter⁵, A. Ianieri¹, E. Zanardi¹, G.L. Alborali³

¹Dipartimento di scienze degli alimenti e del farmaco, Università di Parma, Parma; ²Scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di origine animale "G. Tiecco", Università degli Studi di Teramo, Teramo; ³Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, sede territoriale di Brescia, Brescia; ⁴Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, sede territoriale di Milano, Milano; ⁵Dipartimento di scienze medico-veterinarie, Università di Parma, Parma, Italy

Il seguente lavoro ha avuto l'obiettivo di valutare la presenza di lesioni

gastriche in suini pesanti (macellati a ~170 kg) e di esplorare l'associazione tra queste ed il consumo di farmaci antinfiammatori (FA), sia steroidei (FAS) che non-steroidi (FANS). Le lesioni gastriche sono state valutate in due macelli del Nord Italia in un periodo compreso tra Ottobre e Dicembre 2019, assegnando uno score che andava da 0 a 3 in relazione alla gravità della lesione considerata (0=nessuna lesione; 1=ipercheratosi; 2=erosioni; 3=ulcere). Successivamente, sono stati raccolti i dati generali sulla tipologia di allevamento (ciclo chiuso o aperto) e dimensione (numero di suini allevati in media durante l'anno 2019) delle aziende considerate (n=76). Inoltre, per un subset di queste (n=36), sono stati inclusi i dati di consumo di FA, raccolti tramite l'utilizzo della piattaforma CLASSYFARM e del Sistema Informativo Veterinario. Il consumo di FA è stato stimato per ogni azienda calcolando un valore di Treatment Index 1000 (T_{1000}), il quale corrisponde al numero di suini trattati con uno specifico principio attivo, in un dato giorno, per 1000 suini in azienda. Al fine di analizzare la distribuzione delle lesioni gastriche, è stato calcolato uno score per ogni singola azienda (SA) dato dalla sommatoria delle proporzioni degli stomaci analizzati per un determinato valore di score. La correlazione tra SA (n=76), tipologia e dimensione delle aziende è stata analizzata tramite un modello lineare. Un modello simile è stato utilizzato per valutare nel subset di aziende considerato la relazione tra SA e il consumo di FAS e FANS, con la dimensione delle aziende come covariata. Inoltre, è stata investigata tramite test di correlazione di Spearman il nesso tra il consumo di FA e dimensione delle aziende. In totale, sono stati analizzati gli stomaci di 9371 suini provenienti da 76 aziende (range per azienda: 91-546), di cui 65 erano aziende a ciclo aperto e 11 a ciclo chiuso. Nel complesso, degli stomaci ispezionati il 20.3%, 30.7%, 42.1% e 6.8% presentavano uno score di 0, 1, 2 e 3, rispettivamente. Il valore mediano di singolo score a livello di azienda era di 1.42 (range 0.10-2.25) e non c'erano differenze tra aziende in merito alla tipologia di allevamento ($F_{1,73}=1.45$, $p=0.23$). D'altro canto, è stata registrata una tendenza inversa tra SA e la dimensione aziendale ($F_{1,73}=3.89$, $p=0.052$), con allevamenti di dimensioni maggiori che mostravano uno score più basso. Il T_{1000} mediano di consumo di FA era di 0.45 (range: 0-31.6), con almeno una somministrazione riportata in 29 delle 36 aziende di cui si avevano i dati di consumo. I FANS sono stati usati in 20 aziende (55.6%) con una mediana di T_{1000} di 0.07 (range: 0-30.1), mentre i FAS sono stati usati in 23 aziende (63.9%) con una mediana di T_{1000} di 0.18 (range: 0-6.2). Il consumo di FAS e FANS non era associato con la dimensione delle aziende, mentre le variazioni di SA risultavano essere associate con il consumo di FANS (stima dei parametri $\pm ES$: 0.032 ± 0.015 ; $F_{1,32}=4.43$, $p=0.043$), ma non con quello di FAS, indicando l'utilizzo di FANS come un possibile fattore di rischio per l'insorgenza di lesioni gastriche. In conclusione, i risultati di questo studio mostrano che le lesioni gastriche possono costituire un serio problema nel contesto della suinicoltura e che i FA devono essere somministrati con cautela tenendo in considerazione i diversi fattori di rischio legati all'insorgenza di tali lesioni.

P09

TIMBALLO E MAZZARELLE TERAMANE, RISCHIO TOSSINFEZIONE NELLA RISTORAZIONE COLLETTIVA E DOMESTICA

V. Di Egidio¹, C. Allegretto²

¹Università degli Studi di Teramo scuola di specializzazione ispezione degli alimenti di origine animale, Teramo; ²Specialista area ispezione alimenti di origine animale ex ASL Teramo, Italy

Il lavoro è stato svolto analizzando due piatti tipici della tradizione teramana: il Timballo Teramano e le Mazzarelle. Il timballo teramano è un prodotto a base di carne e fa parte di quelle pietanze che hanno origine dalla cultura gastronomica contadina, da non confondere con la classica lasagna (composta da strati di sfoglia di pasta all'uovo), poiché la stratificazione è data dalla sovrapposizione di crespelle (acqua, farina e uova) gli ingredienti principali sono: carne, fiordilatte, uova, parmigiano, latte e burro. Le mazzarelle sono involtini di corata di agnello (cuore, polmone e fegato) avvolte in foglie di indivia e legate con budelline di agnello, anch'esso prodotto a base di carne e ad oggi incluso nei Prodotti Agroalimentari Tradizionali italiani. Dopo aver preso in considerazione quelli che sono gli ingredienti e le fasi della preparazione delle specialità in oggetto, ne abbiamo analizzato le matrici ed i loro rispettivi rischi nell'ambito delle tossinfezioni dovuti principalmente ad errori ricorrenti nella manipolazione degli alimenti: cattivo stato di conservazione, insufficiente cottura e mancanza di corrette prassi igieniche, all'interno della ristorazione collettiva e delle nascenti micro-attività domestiche. È stato effettuato un focus specifico dei vari agenti patogeni responsabili di malattie trasmesse dagli alimenti (*Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli* e *Norovirus*). Dopo aver riportato la rispettiva normativa che regola ad oggi quelli che sono i controlli e le buone prassi igieniche di lavorazione ed aver effettuato una ricerca negli archivi dei controlli ufficiali del reparto di "Controllo e Sicurezza degli Alimenti" presso l'IZS di Teramo, lo studio ha rilevato un unico caso, nell'ultimo decennio, individuato durante la sagra di Sant'Onofrio dove è stata trovata *Salmonella enteritidis* nel timballo teramano che ha portato al sequestro e distruzione di 4 quintali di prodotto ma che non ha provocato tossinfezione nell'uomo, a conferma del fatto che i controlli dei rispettivi organi di competenza hanno contribuito a far diminuire la percentuale di rischio tossinfezione da alimenti nella ristorazione collettiva e domestica, facendo leva su una formazione igienico-sanitaria "consapevole" degli operatori del settore alimentare.

P10

SELVAGGINA CACCIATA E SICUREZZA ALIMENTARE: INDAGINE SU CRITERI DI IGIENE E DI SICUREZZA MICROBIOLOGICA NEL TERRITORIO PIEMONTESE E VALDOSTANO

A. Vannuccini¹, D.M. Bianchi¹, S. Robetto^{1,2}, E. Carella^{1,2}, D. Adriano¹, L. Decastelli¹, R. Orusa^{1,2}

¹Istituto zooprofilattico del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino; ²Centro di referenza nazionale per le malattie degli animali selvatici (CeRMAS), Torino, Italy

Negli ultimi anni in Italia si è registrato un incremento di ungulati selvatici e un aumento del consumo di carne di selvaggina, sia da parte dei cacciatori che nella ristorazione collettiva. Il lavoro presenta i risultati di una indagine sul livello di contaminazione microbiologica di carni e fegati di ungulati cacciati, finalizzata a valutare il livello di rischio microbiologico legato al consumo di questi prodotti e a identificare e caratterizzare patogeni di interesse alimentare circolanti nel Nord-Ovest italiano. In collaborazione con il Centro di Referenza Nazionale per le Malattie degli Animali Selvatici (CeRMAS) sono stati prelevati campioni di fegato e muscolo di ungulati selvatici cacciati in Piemonte e Valle d'Aosta. Le indagini sono state effettuate presso la SC Sicurezza e Qualità degli Alimenti dell'IZSPLV utilizzando test

accreditati di biologia molecolare (PCR) e/o di microbiologia classica, per la ricerca di *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* STEC, *Yersinia enterocolitica* ed epatite E (HEV). Inoltre, è stato valutato il grado di contaminazione dei campioni di muscolo mediante numerazione di carica mesofila totale (CMT) e di *E. coli* -glucuronidasi positivi. Le analisi sono state eseguite su un totale di 140 campioni (77 muscolo; 63 fegato) rispettivamente di: capriolo (5; 8), cinghiale (28; 23), cervo (30; 22), camoscio (14; 10). Due campioni di fegato su 63 sono risultati positivi per la presenza di *L. monocytogenes* sierotipo IIa. Nessuno dei 138 campioni analizzati per *Salmonella* spp. è risultato positivo. Dei 61 campioni testati in PCR per STEC, 20 hanno mostrato la presenza di uno o più geni di patogenicità: il 60% è risultato positivo per i geni stx-1 e stx-2 e il 40% per stx-1, 2 ed eae. La ricerca di *Y. enterocolitica* in PCR ha fatto rilevare 27 positività tra i 58 campioni di fegato analizzati: è stato possibile identificare il biotipo 1A in 7 campioni (6 cinghiali e 1 capriolo). Nessuno dei 37 campioni (33 muscolo; 4 fegato) sottoposti a PCR per la ricerca di HEV è risultato positivo. Per quanto concerne la CMT, 23 campioni hanno mostrato una carica inferiore a 10^6 ufc/g, 23 campioni compresa tra 10^6 e 10^7 ufc/g, 30 campioni superiore a 10^7 ufc/g. La concentrazione di *E. coli* -glucuronidasi positivi è risultata inferiore a 10^3 ufc/g in 53 campioni, compresa tra 10^3 e 10^4 ufc/g in 27 campioni e superiore a 10^4 ufc/g in 59 campioni. I dati ottenuti sono in linea con quelli di lavori simili condotti nello stesso territorio. La presenza di patogeni di interesse alimentare conferma l'importanza di un'adeguata manipolazione e gestione dei prodotti alimentari derivanti da selvaggina cacciata. Il grado di contaminazione della carcassa è strettamente legato alle buone prassi di macellazione e alle corrette manualità del cacciatore: risulta pertanto fondamentale l'attività di formazione dei cacciatori e la creazione di un maggior numero di centri di lavorazione della selvaggina. In assenza di criteri di igiene di riferimento per la selvaggina, i risultati sono stati confrontati con i parametri delle linee guida per l'analisi del rischio in microbiologia relativi alla "Carne Fresca Refrigerata"; su un totale di 77 campioni, 30 sono risultati non soddisfacenti per CMT e 83 su 140 per *E. coli* -gluc. confermando che sarebbe auspicabile definire criteri microbiologici specifici per le carni di selvaggina.

Progetto finanziato da Ministero della Salute IZS PLV 11/19 RC.

P11

SIEROTIPI RILEVANTI DI *S. ENTERICA*: UTILIZZO DELLA SPETTROSCOPIA A INFRAROSSI A TRASFORMATA DI FOURIER (FT-IRS) PER L'IDENTIFICAZIONE RAPIDA IN LABORATORIO

L. Ciardelli^{1,2}, R. Girola⁵, M. Pitti^{2,3}, D. Adriano², D.M. Bianchi², M. Cordovana⁴, L. Decastelli^{2,3}

¹Scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di origine animale G. Tiecco, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italy; ²S.C. sicurezza e qualità degli alimenti, istituto zooprofilattico sperimentale Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy; ³Centro di riferimento per la tipizzazione delle salmonelle (CeRTiS), Istituto zooprofilattico sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy; ⁴Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germania; ⁵Dipartimento di chimica, biologia e biotecnologie, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy

Secondo quanto previsto dal Piano Nazionale di Controllo delle Salmonellosi (PNCS 2022-2024), per le salmonelle isolate da allevamenti avicoli, occorre discriminare i sierotipi rilevanti (SR) appartenenti al sierogruppo O:4 (*S. Typhimurium* e *S. 1,4, [5],12:i-*) e al sie-

roggruppo O:9 (*S. Enteritidis*) da altri sierotipi, definiti non rilevanti (SNR). Il Reg (UE) 2073/2005 s.m.i. sottolinea la rilevanza di questi sierotipi, indicandoli come criteri di sicurezza alimentare nelle carni fresche di pollame: essi devono risultare non rilevabili in 25 grammi a livello dei prodotti immessi sul mercato, durante il loro periodo di conservabilità. La spettroscopia a infrarossi a trasformata di Fourier (FT-IRS) è un metodo di caratterizzazione fenotipica che quantifica l'assorbimento alla luce infrarossa di molecole presenti sulla superficie delle cellule batteriche acquisendone uno spettro caratteristico. In questo studio abbiamo valutato il potere discriminatorio del sistema IR Biotyper (Bruker Daltonics, Germany), basato sulla FT-IRS, nell'identificare, i SR di *S. enterica*. Un totale di 133 ceppi di *Salmonella* isolati da uomo, ambiente, animali e alimenti è stato incluso nello studio: 56 appartenenti al sierogruppo O:9 (18 ceppi sierotipo *S. Enteritidis*, 38 appartenenti a SNR), 77 del sierogruppo O:4 (25 ceppi di *S. Typhimurium* e *S. 1,4, [5],12:i-* e 52 ceppi di SNR). È stato creato un classificatore per il sierogruppo O:9 utilizzando un training set composto da 27 isolati (SR=8; SNR=19) e un validation set composto da 29 isolati (SR=10; SNR=19). Mentre per il sierogruppo O:4 è stato utilizzato un training set composto da 40 isolati (SR=14; SNR=26) e un validation set composto da 37 isolati (SR=11; SNR=26). I due classificatori sono stati costruiti impiegando l'Artificial Neural Networks (ANNs) del IR Biotyper Client software versione 3.0. Testando i classificatori con i rispettivi training set, i quali includono i isolati con la più alta variabilità di spettri, tali da rispecchiare le differenze fenotipiche interne ad ogni sierotipo, l'accuratezza è risultata essere pari al 100%. Per ottenere la validazione del metodo è stato creato un validation set per ogni sierogruppo: 29/29 campioni e 159/160 spettri sono stati classificati correttamente, ottenendo un'accuratezza pari al 100% nel sierogruppo O:9. Per i campioni appartenenti al sierogruppo O:4 35/37 isolati e 164/172 spettri sono stati classificati correttamente, con un'accuratezza del 97,3%. I risultati preliminari ottenuti da questo studio risultano incoraggianti nell'ottica delle analisi epidemiologiche di monitoraggio e controllo delle salmonellosi, consentendo l'utilizzo di questo strumento come metodica di screening, in affiancamento alla sierotipizzazione classica (EN/ISO 6579-3), in quanto più economico in termini di personale specializzato, tempo e consumabili. I classificatori si sono dimostrati promettenti, rapidi ed efficienti per quanto concerne la distinzione dei SR all'interno dei sierogruppi O:9 e O:4, la loro efficacia verrà ulteriormente implementata aumentando il pool di spettri su cui vengono allenati. In linea con quanto appena descritto è in corso lo sviluppo di un ulteriore classificatore in grado di differenziare anche i singoli sierotipi all'interno del sierogruppo di appartenenza. Infine, i classificatori, basandosi su ANNs, migliorano la loro capacità discriminatoria aumentando il numero di spettri analizzati.

P12

PRODOTTI A BASE DI CARNE ADDIZIONATI DI ESTRATTI BOTANICI: PROVE SPERIMENTALI PER RICETTE DI SALUMI LIBERI DA NITRITI E NITRATI

S. Frizziero^{1,2}, C. Avena², E. Brezzo³, I. Ferrocino⁴, J.D. Coisson⁵, F. Zuccon², D.M. Bianchi², L. Decastelli²

¹Scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti di OA G. Tiecco, Università degli Studi di Teramo; ²S.C. sicurezza e qualità degli alimenti, istituto zooprofilattico sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino; ³Agenzia dei servizi formativi della provincia di Cuneo; ⁴Dipartimento di scienze agrarie, forestali e alimentari, UNITO; ⁵Dipartimento di scienze del farmaco, UNIUPO, Novara, Italy

Il presente lavoro descrive le attività volte a validare nuove formulazioni per prodotti a base di carne, della filiera suinicola piemontese, a ridotto contenuto di nitriti e nitrati. L'obiettivo è stato valutare in vitro l'attività inibente delle frazioni polifenoliche di alcune tra le spezie d'uso comune (timo, salvia, chiodi di garofano e noce moscata) verso microrganismi patogeni e verso la flora lattica e validare tale attività su substrato carneo, prima di trasferire le produzioni in un impianto pilota di salumeria. A partire da piante fresche di timo, salvia, chiodi di garofano e noce moscata si sono ottenuti estratti di polifenoli concentrati con tecnica di estrazione semplice in solvente. L'attività antibatterica degli estratti è stata valutata nei confronti di batteri patogeni (*S.aureus*, *L.monocytogenes*) e alteranti (*C.sporogenes*); è stato inoltre valutato l'effetto degli stessi sulla flora lattica/caratterizzante utilizzando come modello *L.lactis*, *L.curvatus* e *S.xylosum*. La Minima Concentrazione Inibente (MIC) è stata determinata con microdiluizioni in brodo. Da una ricetta base di carne, sale, pepe e destrosio, ne sono state allestite 5 aggiungendo: 1) timo 6,25%, Nitriti 80 mg/kg, microrganismo patogeno/alterante (MPA), *L.curvatus* e *S.xylosum*; 2) timo 6,25%, Nitriti 40 mg/kg, MPA, *L. curvatus* e *S.xylosum*; 3) MPA, *L.curvatus* e *S.xylosum*; 4) *L.curvatus* e *S.xylosum*; 5) timo 6,25%, MPA, *L.curvatus* e *S.xylosum*. Per la verifica dell'effetto inibente sono state eseguite analisi microbiologiche al tempo 0 e, dopo incubazione a 23°C, a 24, 48 e 96 ore. Le prove in vitro hanno evidenziato i seguenti valori di MIC: -Timo: *S.aureus* MIC 0,78%, *L.monocytogenes* MIC 6,2%, *C.sporogenes* MIC 0,39%, *L. lactis* e *L. curvatus* MIC >25%, *S.xylosum* nessuna attività(NA); -Salvia: *S.aureus* MIC 0,097%, *L.monocytogenes* MIC 0,195%, *C.sporogenes* MIC 0,024%, *L. lactis* MIC 0,195% , *L. curvatus* MIC >25%, *S.xylosum* MIC 0,048%; -Noce moscata: *S.aureus* MIC 50%, *L.monocytogenes* NA, *C.sporogenes* MIC 0,195%, *L. lactis* MIC 6,25% , *L. curvatus* NA, *S.xylosum* NA; -Chiodi di garofano: *S.aureus* MIC 0,048%, *L.monocytogenes* MIC 0,78%, *C.sporogenes* MIC 0,195%, *L. lactis* MIC 0,39% , *L. curvatus* MIC 1,56%, *S.xylosum* MIC 0,195%; La concentrazione di *L.monocytogenes* è rimasta stabile, *S.aureus* è passato da una concentrazione di 10⁵ UFC/g a 10⁴UFC/g a 48h, mentre *C.sporogenes*, *L.curvatus* e *S.xylosum* hanno fatto rilevare un aumento esponenziale della concentrazione nel corso delle 96h. A seguito dei risultati ottenuti con le prove in vitro, si è deciso di selezionare solo l'estratto di timo per le successive prove su substrato carne. Il timo si è dimostrato capace di ridurre le concentrazioni di *S.aureus* e di inibire l'aumento di quelle di *L.monocytogenes*. Le prove su *C.sporogenes* mettono in evidenza l'assenza di efficacia di tutte le ricette testate nel controllarne la moltiplicazione. Le concentrazioni dei microrganismi starter si sono mantenute stabili in tutte le ricette testate. Future prove saranno allestite per individuare una ricetta efficace sul controllo di *C.sporogenes* e per poter proseguire con Challenge Test su produzioni di salumi sperimentali.

Programma di Sviluppo Rurale 2014-2020 Misura 16 Innovazione e Cooperazione (16.1.1) finanziato dal Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale FEASR, Stato italiano e Regione Piemonte, progetto "Salumi Liberi" CUP J66B20006310002.

P13

STUDIO EPIDEMIOLOGICO DAL 2015 AL 2021 DEI VALORI MEDI DI CARICA BATTERICA SU CARCASSE BOVINE

A. Pesce¹, G. Restaino¹, A. Marino², M. Nilveti¹, D. Coluccino¹, M. Gaudino¹, A. Giliberti¹

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno; Dipartimento Area B, ASL Caserta 2, Italy

Lo stato igienico sanitario della carne comprende una serie di fattori: l'assenza di sostanze nocive esogene l'assenza di germi patogeni non che la ridotta presenza della carica microbica. Quest'ultima influisce negativamente sui vari processi di lavorazione quali: frollatura, maturazione e trasformazione. Il rischio di malattie di origine alimentare è aumentato negli ultimi 20 anni e la maggior parte dei casi di intossicazione è causata da batteri che derivano da fonti animali, umane o ambientali; la carne cruda contaminata è una delle principali fonti di malattie di origine alimentare. I soggetti portatori, senza sintomatologia clinica, si comportano da "disseminatori" nell'ambiente, pertanto alcune fasi specifiche della macellazione quali: scuoiamento, depilazione ed eviscerazione, rappresentano momenti critici; in tali circostanze possono essere trasferiti sulla superficie della carcassa anche 3 log cfu/cm². In particolare le contaminazioni fecali e i microrganismi patogeni tendono ad aderire sulle superfici della carcassa più ricoperte di grasso. Il trasferimento di batteri tra carcasse è influenzato dalla struttura dell'impianto, dalla velocità della catena di macellazione e dalle attività degli operatori. I criteri microbiologici di igiene e di processo, sono stabiliti dal Reg.(CE) n. 2073 che prevede, in caso di superamento dei limiti, l'applicazione di azioni correttive. Lo studio è stato condotto in tre macelli localizzati nella provincia di Avellino ove i veterinari dell'ASL hanno effettuato i tamponi per la valutazione della carica batterica totale su quattro siti di prelievo come previsto dalla norma ISO 17604:2015; nello specifico è stata delimitata un'area di 100 cm² da sottoporre a prelievo e i tamponi sono stati esaminati entro le 24 ore. E' stato usato un terreno solido, Plate Count Agar e dopo incubazione aerobica a 30°C sono stati valutati i dati in base al numero di Ufc per cm² di superficie campionata. Nella Figura 1 abbiamo riportato il totale dei campioni esaminati dal 2015, mentre nella Figura 2 si evidenzia nell'anno 2015, un picco di 1726 ufc/cm² e successivamente una costante decrescita fino al 2019; ciò potrebbe essere messo in relazione con l'introduzione di misure di prevenzione delle contaminazioni introdotte dopo i primi riscontri di campionamento.

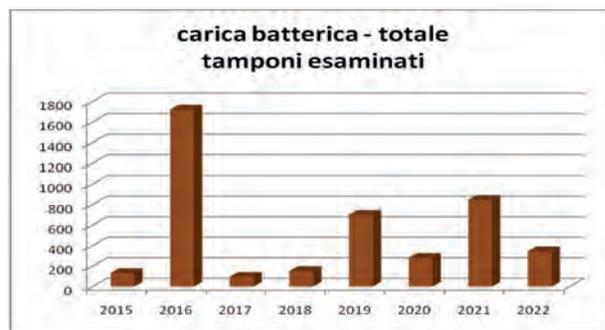


Figura 1.

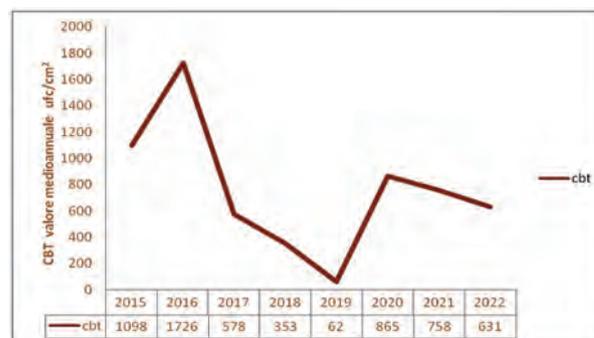


Figura 2.

Nell'ultimo triennio il valore risulta stabilizzarsi tra 600 e 800 ufc/cm². Inoltre, abbiamo considerato, se la stagionalità avesse potuto influenzare i risultati, visto che nel periodo di maggiori piogge vi è più ristagno di letame nelle stalle; dai dati elaborati risultano valori medi di contaminazione nelle prime annate considerate, maggiori nel periodo invernale (Figura 3); tale dato risulta preliminare in quanto i campionamenti non sono stati effettuati in maniera continuativa. Le evidenze raccolte, potrebbero rappresentare un utile indicatore delle condizioni igienico-sanitarie degli animali e della conduzione della stalla. Le misure suggerite sono: strategie di acquisto degli animali destinati alla macellazione in funzione dell'aspetto "pulizia cute/vello" o classificazione economica degli animali in base al grado di pulizia della cute; utilizzo di veicoli ventilati e puliti; tecniche di macellazione basate sull'utilizzo di vapore sottovuoto; infatti i dati fin ora raccolti indicano che la decontaminazione batterica delle carcasse dopo trattamento si aggira intorno ad 1 log (flora microbica totale) dopo le 24h di stoccaggio.

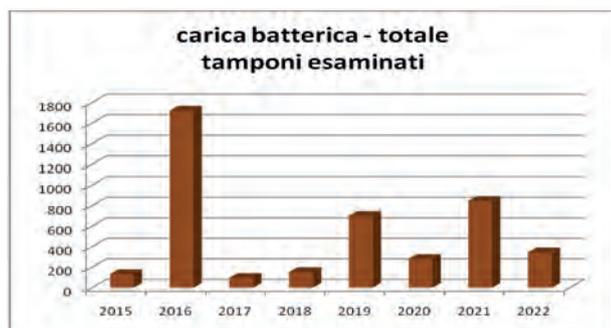


Figura 3.

P14

CONTROLLO DELLO SVILUPPO MICROBICO SULLE CARCASSE DI BOVINO MEDIANTE L'IMPIEGO DI UN TESSUTO NON TESSUTO "BACTERIA CATCHER" DOPO LA MACELLAZIONE

M. Castrica¹, C.M. Balzaretta¹, E. Leprini², L. Budelli³, D. Miraglia⁴

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali, Università degli Studi di Milano, Lodi; ²Medico Veterinario libero professionista; ³USL Umbria 1, Perugia; ⁴Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy

La carne fresca è un alimento altamente deperibile che impone di limitare la contaminazione e lo sviluppo microbico in tutte le fasi di produzione e commercializzazione. A questo proposito, in alcuni matatoi le mezzene vengono avvolte da un tessuto elastico per prevenire le contaminazioni. Pertanto, l'obiettivo di questo lavoro è stato quello di sperimentare un tessuto non tessuto "bacteria catcher" (PAD-BC) con attività antibatterica per avvolgere le carcasse o i grandi tagli anatomici, al fine di prevenire le contaminazioni, ma anche di abbattere la flora microbica già presente. Subito dopo la macellazione prima del raffreddamento, su $n=5$ carcasse di bovino, sono stati applicati $n=10$ PAD controllo (PAD-CTR) e $n=10$ PAD-BC (25 cm² ciascuno). Inoltre, 5 aree adiacenti (CTR: aree senza trattamenti) sono state campionate (T0) per verificare il profilo microbiologico della carcassa. Dopo 3 ore di stoccaggio a 1°C±1 (ventilazione automatica) è stato effettuato il secondo rilevamento (T1) analizzando 5 aree CTR, 5 PAD-CTR e 5 PAD-BC. Dopo 48 ore (T2) si è proceduto con il medesimo campionamento. Successivamente sono state eseguite le seguenti

determinazioni analitiche: carica batterica totale (CBT), *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus* spp. e *Staphylococcus* spp. Al T1, l'applicazione del PAD-BC ha determinato una riduzione microbica media di 0,72 Log UFC/cm² ($P<0,05$). Tuttavia, un decremento significativo (0,51 Log UFC/cm²; $P<0,05$) della carica batterica è stato riscontrato anche nelle aree CTR. Sembra quindi che le condizioni di refrigerazione abbiano esercitato un'azione batteriostatica. La combinazione temperatura e ventilazione impostate, è stata letale per parte della flora microbica presente, anche in ragione di un probabile abbassamento dell'aw nelle zone superficiali delle carcasse. Analogo andamento è stato registrato anche per *Lactobacillus* spp., mentre *Staphylococcus* spp. non ha risentito delle condizioni ambientali. Tuttavia, sulle superfici a contatto col PAD-BC questo microorganismo è stato in parte "catturato" dal tessuto e al T1 la sua concentrazione si è ridotta di circa 0,5 Log UFC/cm² ($P<0,05$) rispetto al T0. È interessante notare che nel gruppo CTR-PAD le conte microbiche sono rimaste invariate rispetto ai valori iniziali ($P>0,05$); è plausibile che il PAD-CTR abbia mantenuto la superficie più umida, permettendo ai microorganismi di rimanere vitali più a lungo. Per quanto riguarda *Enterobacteriaceae*, la bassa prevalenza di campioni positivi non ha permesso comparazioni statistiche. Dopo 48 ore, le conte microbiche sono ulteriormente diminuite rispetto a T1 ($P<0,05$) solo per lattobacilli nel gruppo PAD-BC e per CBT nel gruppo CTR-PAD ($P<0,05$). Probabilmente in quest'ultimo caso, l'azione "protettiva" del PAD-CTR si è esaurita col proseguire della conservazione. Viceversa il PAD-BC ha continuato la sua azione sequestrante anche se solo per *Lactobacillus* spp., cosicché dopo due giorni di conservazione i lattobacilli rilevati in questo gruppo erano significativamente più bassi rispetto al PAD-CTR ($P<0,05$). Il controllo microbico può essere gestito attraverso idonee condizioni di stoccaggio delle carcasse, pertanto l'impiego di un tessuto per la riduzione superficiale della contaminazione non sembrerebbe necessario in questa fase. Interessante sarà valutare l'efficacia di questa strategia in momenti successivi della filiera, in condizioni meno drastiche di conservazione e con cariche microbiche iniziali più elevate.

P15

APPROCCIO MOLECOLARE ALLE SARCOSPORIDIOSI DEL CINGHIALE (*SUS SCROFA*)

S. Rubiola¹, L. Pacifico², G. Faggio¹, F. Chiesa¹, M.F. Sgadari², S. Scarcelli², B. Restucci², E. Castaldo², N. D'Alessio^{3,4}, A. Fioretti^{2,4}, A. Gazzonis⁵, A. Anastasio², V. Veneziano^{2,4}

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università Degli Studi Di Napoli "Federico II", Napoli; ²Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO); ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici (NA); ⁴Osservatorio Faunistico Venatorio, Regione Campania, Napoli; ⁵Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali, Università degli Studi di Milano, Lodi, Italy

Il genere *Sarcocystis* include oltre 200 specie di parassiti protozoi dixeni a diffusione cosmopolita. I suidi domestici o selvatici possono fungere da ospiti intermedi di almeno due specie di *Sarcocystis*: *S. suis* e *S. miescheriana*, che richiedono rispettivamente un primate e un canide come ospite definitivo. Una terza specie, *S. porcifelis*, riportata negli anni '70 nell'allora Unione Sovietica, non è mai stata confermata. Con il trend di consumo di carne di cinghiale in aumento, la necessità di investigare la presenza di parassiti a trasmissione alimentare nella selvaggina con metodiche rapide e sensibili è di primaria importanza per la tutela della salute pubblica. Data

la scarsità di dati relativa alla diffusione delle diverse specie di *Sarcocystis* nei suidi, il presente lavoro si propone di valutare con metodiche molecolari la diffusione di *Sarcocystis* spp. nei cinghiali in Italia e di mettere a punto una multiplex-PCR per discriminare le due specie attualmente note, fornendo così un utile protocollo molecolare per la sorveglianza della specie di *Sarcocystis* a potenziale zoonotico. Tra il 2019 e il 2020 sono state campionate 311 carcasse di cinghiale in regione Campania contestualmente ai prelievi venatori del progetto regionale "Piano Emergenza Cinghiali in Campania". In seguito all'esame istologico di 997 tessuti, di cui 269 campioni di esofago, 277 campioni di diaframma, 298 campioni di cuore e 153 campioni di lingua, i tessuti risultati positivi sono stati accorpati per singolo capo e sottoposti ad indagine molecolare mediante la messa a punto e l'applicazione di un protocollo di multiplex-PCR avente come target il gene mitocondriale Citocromo C Ossidasi subunità 1 (*cox1* mtDNA). Al fine di disegnare i primers specifici per *S. miescheriana* e *S. suihominis*, le sequenze parziali delle sopracitate specie disponibili su GenBank sono state allineate e confrontate utilizzando il software Mega7; i primers sono stati disegnati e testati in-silico utilizzando il software Primer3Plus e Primer-BLAST, e in vitro utilizzando campioni di *S. miescheriana* e *S. suihominis* precedentemente sottoposti a PCR e sequenziamento di Sanger. L'esame istologico ha rivelato la presenza di cisti tissutali riconducibili a *Sarcocystis* spp. in 251 carcasse su 311 (80,7%), con una media di 3,4 sarcocisti per soggetto esaminato. La presenza di *Sarcocystis* spp. è risultata significativamente maggiore nei cinghiali adulti ($p < 0,05$); tra i tessuti esaminati, cuore ed esofago sono risultati i più interessati ($p < 0,05$). Il protocollo di multiplex-PCR, messo a punto e applicato sulle 251 carcasse risultate positive all'esame istologico ha confermato la presenza di *S. miescheriana* in 230 carcasse; nessuna carcassa è risultata positiva per *S. suihominis*. *S. suihominis* è attualmente considerata l'unica specie zoonotica di *Sarcocystis* avente i suidi quali ospiti intermedi; il consumo di carne cruda o poco cotta di cinghiali o suini domestici può pertanto costituire un fattore di rischio. In questo contesto, il ricorso alle indagini molecolari, e in particolare, l'amplificazione del gene *cox1* mtDNA, può costituire un valido e rapido ausilio per l'identificazione rapida di *Sarcocystis* nella selvaggina. Il presente studio ha consentito di confermare la bassa prevalenza di *S. suihominis* nei cinghiali in Italia, evidenziando l'utilità e la rapidità del metodo e suggerendo un basso rischio legato al consumo di carne di cinghiale.

P16

VALUTAZIONE PRELIMINARE DELLA MICROBIOLOGIA DELLA CARNE BOVINA SOTTOPOSTA A PROLUNGATA MATURAZIONE (DRY AGING)

E. Novelli¹, F. Fontana¹, S. Balzan¹, S. Currò¹, I. Martinato², G. Nana², L. Fasolato¹

¹Dipartimento di biomedicina comparata e alimentazione, Università degli Studi di Padova; ²Istituto Italyno Assaggiatori Carne-De Gustibus Carnis, Torri del Benaco (VR), Italy

Questo studio preliminare ha valutato i cambiamenti a carico di alcuni indicatori microbiologici di igiene e di processo della carne bovina maturata 120 giorni in una cella a circolazione d'aria. Due lombate (m. *L. dorsi*; scottone, Limousine e incrocio polacco) dal 7° giorno dopo la macellazione sono state poste in una cella, annessa al punto vendita di una macelleria e impiegata solo per il processo di *dry aging* (DA), a temperatura (1,5± 3,5°C) e umidità relativa (80%) controllate, per 120 giorni. A 30, 60, 90, 120 giorni,

sulla superficie esposta della carne (crosta) e su una porzione interna dopo rimozione della crosta, sono stati indagati Carica Batterica Psicrotrofa (CBP) e mesofila (CBM) su PCA rispettivamente a 30°C per 72 h e 4°C per 10 giorni, *Pseudomonas* spp su *Pseudomonas* Agar Base con supplemento CFC posto per 48 h a 25°C, solfito riduttori su Iron agar di Lyngby (presunta *Shewanella* spp.) incubato a 25°C per 48 h, batteri lattici su MRSA agar in anaerobiosi a 30°C per 48 h, lieviti e muffe su OGYE a 25°C con osservazione rispettivamente a 3 e 5 giorni. Le suddette porzioni ai tempi indicati sono state escisse dalla costata, confezionate separatamente sottovuoto e analizzate entro 24 ore dall'escissione. Fra i risultati osservati, la porzione esterna a contatto con l'ambiente si presentava asciutta e di colore molto scuro, le cui CBP e CBM erano rispettivamente pari a 10 e 9 logUFC/g a 30 giorni e diminuivano linearmente durante il periodo di osservazione con valori rispettivamente di 5 e 7 logUFC/g a 120 giorni. Nella porzione utile al consumo CBP e CBM presentavano un valore iniziale di 2 log inferiore rispetto la crosta mentre risultavano entrambi prossimi a 5 log a 120 giorni. I batteri lattici si mantenevano costanti per l'intero periodo con valori compresi fra 5 e 6 log in entrambe le tipologie di campione. *Pseudomonas* spp è risultato il microrganismo dominante all'inizio con livelli di 10 e 8 logUFC/g rispettivamente sulla superficie esterna e interna a 30 giorni per poi gradualmente declinare a 6 e 4 log a 120 giorni. I lieviti sono rimasti pressoché costanti per tutto il periodo di osservazione con valori intorno a 7 log mentre non sono state rilevate muffe né solfito riduttori nello specifico *Shewanella* (< limit of detection). In carni fresche e prodotti a base di carne vengono proposti 7 LogUFC/g quale livello inaccettabile di igiene sia per CBM che per alteranti specifici quali *Pseudomonas*. Nel contesto del DA, gli alti livelli riscontrati sono peculiari di una maturazione progressiva che porta ad una stabilizzazione dei gruppi microbici. *Pseudomonas* e lieviti sono parte del microbiota peculiare del prodotto e concorrono all'intenerimento dello stesso. In conclusione, dallo studio preliminare emergono almeno due indicazioni degne di essere approfondite con ulteriori e più estesi, in termini di unità campionarie, test di campo: i) la riduzione della carica microbica, nello specifico *Pseudomonas*, in misura quasi lineare alla durata del periodo di frollatura.; ii) l'assenza di muffe sulla superficie, come invece rilevato da altri autori, sostituite da lieviti il cui ruolo nello sviluppo dell'aroma e di composti di idrolisi proteica e lipidica è oggetto di grande attenzione anche nei prodotti carnei. Ulteriori argomenti di approfondimento, su un prodotto che viene consumato previa cottura, investono aspetti di ordine merceologico nonché questioni igienico-sanitarie come la potenziale produzione di ammine biogene.

P17

EFFETTO DELL'AGGIUNTA DI SANSI DI MELA FRESCA E LIOFILIZZATA SULLE CARATTERISTICHE IGIENICO-SANITARIE, MERCEOLOGICHE E SENSORIALI DI SALAMI PRODOTTI IN UMBRIA

L. Grispoldi¹, F. Ianni², F. Blasi², L. Pollini², B.T. Cenci-Goga^{1,3}, L. Cossignani^{2,4}

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia; ²Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia; ³University of Pretoria, Faculty of Veterinary Science, Department of Paraclinical Sciences, South Africa; ⁴Center for Perinatal and Reproductive Medicine, University of Perugia, Santa Maria della Misericordia university hospital, Perugia, Italia

I residui dell'industria agroalimentare sono preziose fonti per il recupero di composti bioattivi, tra i quali i polifenoli e le fibre che trovano applicazione nell'industria alimentare come additivi e ingredienti alimentari funzionali naturali. Fra questo tipo di prodotti riveste una crescente importanza la sansa di mela, il sottoprodotto più abbondante della produzione del succo di mela. La sansa di mela può essere utilizzata nella produzione di prodotti a base di carne allo scopo di arricchirli di nutrienti utili e viene normalmente utilizzata in forma liofilizzata. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di utilizzare la sansa di mela fresca in diverse percentuali per produrre salami arricchiti, valutando l'effetto sulle caratteristiche igienico-sanitarie, merceologiche e sensoriali del prodotto confrontando i risultati con lo stesso tipo di salami realizzato utilizzando sansa di mela liofilizzata. La sansa di mela è stata caratterizzata da analisi chimiche, cromatografiche e spettrofotometriche. Successivamente, sono stati prodotti tre tipologie di salami: 0% sansa di mela (controllo), 7% sansa di mela e 14% sansa di mela. I salami sono stati sottoposti a stagionatura per 25 giorni. Le analisi fisico-chimiche, colorimetriche e microbiologiche sono state effettuate ai giorni 0, 5, 11, 19 e 25, mentre a fine stagionatura sono state effettuate valutazioni nutrizionali e sensoriali (panel test). I risultati sono stati analizzati statisticamente e confrontati con salami prodotti con aggiunta di sansa di mela liofilizzata. La sansa di mela ha mostrato una preziosa attività antiossidante, dovuta alla presenza di composti fenolici, tra cui quercetina-3-O-galattoside, quercetina-3-O-arabinofuranoside e floridzina. L'aggiunta di sansa di mele ha portato ad una colorazione in media più gialla e meno rossa rispetto al controllo, mentre pH e aw non hanno mostrato differenze rilevanti. Dal punto di vista microbiologico, la carica mesofila aerobia e i batteri lattici (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., enterococchi) hanno raggiunto in media valori più elevati nei salami ottenuti con l'aggiunta di sansa di mela. Le altre popolazioni batteriche analizzate (*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp.) non hanno invece mostrato differenze rilevanti. Il giudizio complessivo è stato leggermente superiore per i campioni con il 7% rispetto al 14%, e generalmente la sostituzione di una percentuale di carne con sansa di mele ha consentito la produzione di salami con proprietà sensoriali paragonabili a quelle ottenute con le ricette classiche. Inoltre, i risultati ottenuti erano molto simili rispetto a quanto ottenuto con l'aggiunta di sansa di mela liofilizzata. Questo lavoro conferma che la sansa di mela è un interessante prodotto di scarto con proprietà funzionali, utile come ingrediente per la fortificazione degli alimenti di origine animale. L'arricchimento dell'impasto con sansa di mela ha portato a caratteristiche igieniche e di sicurezza paragonabili ai prodotti non fortificati, senza portare ad alterazioni e favorendo la crescita di popolazioni batteriche utili come i batteri lattici. I risultati di questo studio forniscono utili informazioni per migliorare l'impiego della sansa di mele e allo stesso tempo per ridurre con il contenuto di grassi e aumentare il contenuto di fibre dei prodotti.

P18

CONTROLLI UFFICIALI PER LA DETERMINAZIONE DELLE BIOTOSSINE MARINE LIPOSOLUBILI IN MITILI ALLEVATI LUNGO LA COSTA ADRIATICA

L. Annunziata¹, R. Aloia¹, M. Schirone², G. Scortichini¹, P. Visciano²

¹Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G. Caporale, reparto bromatologia e residui, Teramo; ²Facoltà di bioscienze e tecnologie agro-alimentari e ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italy

Le biotossine marine sono prodotte da alghe unicellulari appartenenti

ai generi *Alexandrium*, *Gymnodinium*, *Dinophysis*, *Prorocentrum* e *Pseudo-nitzschia* e si possono accumulare nei molluschi bivalvi in quanto organismi filtratori. Si distinguono in idrosolubili e liposolubili, le prime sono responsabili della Paralytic Shellfish Poisoning e Amnesic Shellfish Poisoning, mentre le seconde causano la Diarrhetic Shellfish Poisoning. Secondo il Regolamento (UE) 627/2019, le autorità competenti hanno il compito di monitorare periodicamente le aree di produzione dei molluschi bivalvi vivi, al fine di verificare l'eventuale presenza di plancton tossico e biotossine marine. Nel presente lavoro sono riportati i risultati dei campionamenti ufficiali effettuati lungo la costa adriatica che si estende da Martinsicuro (Teramo) a Termoli (Campobasso) nel biennio 2020-2021. Il campionamento ha interessato venti impianti di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) presenti in Abruzzo e Molise, di cui cinque localizzati nella provincia di Teramo, uno in provincia di Pescara, quattro nella provincia di Chieti e dieci in provincia di Campobasso. I campioni sono stati analizzati dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise per la determinazione di acido okadaico, dinofisitossina 1 e 2, pectenotossina 1 e 2, azaspiracidi 1, 2 e 3, yessotossina e suoi analoghi, mediante il metodo ufficiale messo a punto dal Laboratorio Comunitario di Riferimento di Vigo (Spagna) basato sull'utilizzo della spettrometria di massa. Sono stati esaminati in totale 159 campioni nel 2020 e 175 nel 2021. I risultati ottenuti hanno mostrato la contaminazione dei molluschi bivalvi vivi solo per acido okadaico e yessotossina. Nei due anni oggetto di indagine, sono stati riscontrati rispettivamente 49 (31%) e 25 (14%) campioni positivi per l'acido okadaico, di cui 9 (6%) e 2 (1%) non conformi perché superiori ai limiti di legge (160 g di equivalente acido okadaico/kg) stabiliti dal Regolamento (CE) 853/2004. A seguito del riscontro delle non conformità, gli impianti sono stati sottoposti a divieto di raccolta, prevedendo un prelievo successivo a distanza di 15 giorni per la ripetizione delle analisi. La presenza di yessotossina è stata osservata a concentrazioni sempre inferiori al limite normativo (3,75 mg di equivalente yessotossine/kg) in 28 (18%) e 56 (32%) campioni nel 2020 e 2021, rispettivamente. Il presente studio ha evidenziato la contaminazione solo per alcune biotossine marine, nei mitili allevati lungo la costa adriatica nel periodo considerato. Il tempo di 15 giorni di sospensione della raccolta di molluschi bivalvi, dagli impianti in cui sono stati rilevati campioni non conformi, è risultato sufficiente perché le concentrazioni di acido okadaico rientrassero nei limiti massimi consentiti. Il rilevamento di campioni positivi sottolinea, tuttavia, la necessità di un controllo costante di questi composti, che destano notevoli preoccupazioni per il consumatore, a causa della loro tossicità associata alla comparsa di forme di intossicazione acuta, talora anche ad esito letale.

P19

RILEVAMENTO E QUANTIFICAZIONE MEDIANTE DROPLET DIGITAL PCR DI SARS-COV-2 NEI MOLLUSCHI BIVALVI RACCOLTI IN CAMPANIA

A. Mancusi¹, F. Capuano¹, S. Girardi¹, O. Di Maro¹, E. Suffredini³, D. Di Concilio², L. Vassallo², M.C. Cuomo², M. Tafuro², D. Signorelli², A. Pierri², A. Pizzolante², P. Cerino², G. La Rosa⁴, Y.T.R. Proroga¹, B. Pierri²

¹Istituto zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, department of food security coordination, Portici (NA); ²Istituto zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, centro di referenza nazionale per l'analisi e studio di correlazione tra ambiente, animale e uomo, Portici (NA); ³Istituto superiore di sanità, department of food safety, nutrition and veterinary public health, Roma;

⁴Istituto superiore di sanità, department of environment and health, Roma, Italy

Il SARS-CoV-2 è l'agente eziologico della terza e più grave epidemia sostenuta da coronavirus. Diversi studi hanno segnalato la presenza di RNA virale nelle feci dei pazienti con COVID-19 e nelle acque reflue in tutto il mondo, ciò ha evidenziato l'utilità della sorveglianza ambientale per seguire i trend epidemici. Il rilevamento del SARS-CoV-2 nelle feci di pazienti infetti sintomatici e asintomatici e di conseguenza nelle acque reflue, ha anche attirato l'attenzione sulla possibile presenza del virus nei molluschi bivalvi. Quest'ultimi sono organismi filtratori e sono facilmente contaminati dagli agenti patogeni presenti nelle acque contaminate dai reflui urbani. Le basse concentrazioni virali e la presenza di forti inibitori della PCR nei campioni ambientali e alimentari rappresentano i principali ostacoli nell'applicazione della real-time RT-PCR per l'individuazione di virus nei molluschi. Diversi studi hanno dimostrato che la Droplet Digital PCR (ddPCR) offre molteplici vantaggi per la rilevazione e quantificazione assoluta del virus rispetto alla real-time RT-PCR (Huang et al. 2015). Scopo di questo studio è stato la raccolta di dati sulla prevalenza della SARS-CoV-2 nei molluschi bivalvi provenienti dalle zone di raccolta della regione Campania (Sud Italia) utilizzando una metodica di droplet digital RT-PCR (ddRT-PCR). Il recupero del virus dai molluschi è stato effettuato secondo la norma ISO 15216-2:2019. La rilevazione di SARS-CoV-2 è stata eseguita utilizzando come target la regione Orf1b nsp14, il gene RdRp, il gene N ed un target generico per i beta-Coronavirus, il gene E. Il rilevamento è stato effettuato mediante il sistema QX200 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Per tutti i campioni testati il recupero medio è stato del 6,0%, con indice di confidenza compreso fra 1,5% a 10,0%. Lo screening dei molluschi bivalvi raccolti tra settembre 2019 e aprile 2021 ha rivelato la presenza di SARS-CoV-2 RNA in 19 dei 179 campioni (10,6%) analizzati con il metodo ddRT-PCR. In dettaglio, in 11/19 campioni è stata amplificata la regione Orf1b nsp14 (intervallo di concentrazione da 0,13 a 4,1 copie genomiche (g.c.)/ μ l di RNA), 10/19 campioni sono risultati positivi per il gene RdRp (da 0,12 a 7,6 g.c./ μ l di RNA) e 4/19 per il gene E (da 0,2 a 0,8 g.c./ μ l di RNA); nessun campione ha mostrato l'amplificazione del gene N. Sulla base di questi risultati, si può osservare che, nonostante la diffusa circolazione nella popolazione e la presenza nelle acque di scarico, le concentrazioni di SARS-CoV-2 nei molluschi sono estremamente contenute e, in considerazione della limitata sopravvivenza ambientale del virus, le probabilità di trasmissione di SARS-CoV-2 attraverso i molluschi bivalvi sono molto basse o trascurabili. I molluschi bivalvi possono rappresentare un approccio interessante per monitorare la diffusione della SARS-CoV-2 nei corpi idrici e una valida alternativa per monitorare le tendenze dell'epidemia e l'eventuale presenza di varianti virale.

P20

PRESENZA DI SOSTANZE PERFLUOROALCHILICHE: CONFRONTO TRA PESCI DI MARE E DI LAGO E IMPATTO SULLA SICUREZZA ALIMENTARE

G. Mosconi, M. Nobile, S. Panseri, F. Di Cesare, F. Arioli, L.M. Chiesa

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di medicina veterinaria e scienze animali (DIVAS), Milano, Italy

Le sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) sono una classe di composti fluorurati utilizzati in moltissime applicazioni industriali e commerciali in virtù delle loro proprietà tensioattive. Queste sostanze sono dotate di tossicità e sono soggette a fenomeni di bioaccumulo, pertanto

sono diventate un problema a livello globale. Tra le varie fonti di esposizione la dieta è sicuramente il canale primario attraverso cui entriamo in contatto con questi composti e i prodotti ittici sono quelli che maggiormente contribuiscono a questa esposizione. Per quanto riguarda l'ambiente marino il branzino (*Dicentrarchus labrax*) e l'orata (*Sparus aurata*) sono due dei pesci più comunemente consumati nell'Unione Europea, vengono infatti utilizzati nella preparazione di alimenti per l'infanzia e sono indicati per tutti gli altri gruppi di età grazie alle loro proprietà nutrizionali. Parlando invece delle acque continentali è interessante studiare il bioaccumulo di PFAS nelle specie ittiche che popolano i laghi visto il lungo tempo di permanenza all'interno di questi bacini spesso caratterizzati da un forte stress antropologico dovuto alle attività umane locali. Lo scopo di questo lavoro è stato quindi quello di indagare la presenza di PFAS nei pesci d'allevamento più consumati (branzino e orata) del Mar Mediterraneo mettendoli a confronto con i più comuni pesci d'acqua dolce dei principali laghi del Nord Italia il cui consumo è sicuramente meno diffuso ma può arrivare ad essere importante in alcune comunità locali. Sono stati prelevati un totale di 75 campioni da negozi al dettaglio della Lombardia. In particolare 30 pesci di mare allevati, divisi in 15 branzini e 15 orate, provenienti da Grecia, Croazia, Italia e Turchia e 45 pesci di lago, di cui 15 coregoni (*Coregonus lavaretus*), 15 persici (*Perca fluviatilis*) e 15 agoni (*Alosa agone*) provenienti dai laghi di Garda, Como e Iseo. Il protocollo analitico ha previsto l'estrazione di 5 grammi di campione con acetone nitrile seguita da una purificazione su colonnine per estrazione in fase solida STRATA PFAS ed infine un'analisi in cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa ad alta risoluzione (UPLC-HRMS). Solo 3 dei 17 PFAS ricercati sono stati rilevati: l'acido perfluorobutanico (PFBA), l'acido perfluoroottansolfonico (PFOS) e l'acido perfluorobutansolfonico (PFBS). Il PFBA e il PFOS sono stati ritrovati sia nei pesci di mare che in quelli di lago, mentre il PFBS solo nei pesci di acqua dolce. In particolare gli agoni del lago di Garda hanno mostrato le concentrazioni più elevate di PFBA (7.98 ± 6.53 ppb) e di PFBS (1.04 ± 1.97 ppb), mentre quelli del lago di Como presentavano le concentrazioni maggiori di PFOS (9.68 ± 5.95 ppb). Tra i pesci di mare le concentrazioni medie tra branzini e orate erano comparabili per quanto riguarda il PFBA (4.58 ± 2.57 e 4.37 ± 1.41 ppb rispettivamente), mentre per il PFOS le maggiori frequenze di ritrovamento (70%) e concentrazioni (0.14 ± 0.16 ppb) sono state rilevate nei branzini provenienti dalla Turchia. Considerando la dose settimanale tollerabile (TWI) di 4.4 ng/kg di peso corporeo, stabilita dall'ultima nota dell'EFSA, per la somma dei 4 PFAS (acido perfluoroottanoico (PFOA), acido perfluorononanoico (PFNA), acido perfluoroesansolfonico (PFHxS) e PFOS), è stata effettuata una valutazione del rischio basata su un approccio conservativo che non ha evidenziato pericoli per la salute del consumatore, in quanto la TWI non veniva mai superata.

P21

ALLERTA ALIMENTARE DA NITRITI IN TRANCI DI TONNO

G. Di Serafino¹, S. Antoci¹, G. Scortichini², L. Di Stefano², C. Allegretto¹, L. Campanelli¹, S. Centi Pizzutilli¹, S. Mastropietro¹, R. Piccioni¹

¹Servizio veterinario di igiene degli alimenti di origine animale, Dipartimento di prevenzione, azienda sanitaria locale, Teramo; ²Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italy

In seguito a notifica di allerta alimentare da nitriti, nel mese di giugno dell'anno 2021 il personale del Servizio Veterinario di Igiene degli

Alimenti di Origine Animale (SVIAOA) della Azienda Sanitaria Locale (Asl) di Teramo è stato coinvolto nelle operazioni di tracciamento del commercio di tranci di tonno. La notifica di allerta relativa ad "intossicazione alimentare per consumo di tonno a pinna gialla decongelato con acqua aggiunta" è arrivata in concomitanza con la comunicazione di un sospetto caso di malattia trasmessa da alimenti associato a ricovero di un bambino per consumo di bocconcini di tonno crudo, presso il Reparto di Pediatria del Presidio ospedaliero di Teramo. I primi risultati clinici condotti sul paziente deponevano per una intossicazione da nitrati e nitriti, ipotesi suffragata dai sintomi di sindrome anossiemica. I familiari del paziente, oltre a consegnare i residui del pasto sospetto al Reparto di Pediatria, avevano comunicato come questo fosse stato acquistato in una pescheria del teramano. L'attività ispettiva del personale del SVIAOA, confermando quanto riportato nella lista di distribuzione della merce oggetto di allerta, ha evidenziato come il prodotto era stato commercializzato da due operatori del teramano, uno dei quali aveva provveduto, a sua volta, a fornire dei grossi quantitativi di tonno anche all'esercizio di vicinato in cui erano stati acquistati i bocconcini di tonno crudi oggetto di interesse. Si è proceduto al campionamento degli alimenti presenti nella pescheria quali polpette di tonno e preparazioni a base di prodotti ittici da consumarsi crudi (sushi) contenenti tonno, sia per parametri chimici (istamina, nitrati, nitriti) che microbiologici (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, Stafilococchi coagulasi positivi). I campioni sono stati inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo del Molise "G. Caporale" dove sono state effettuate le analisi, in particolare quelle per nitrati e nitriti del campione reperito con metodica non accreditata High Pressure Ion Chromatography (HPIC) e successivamente inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "T. Rosati", per sottoporli ad analisi con prove accreditate. Le analisi hanno confermato il risultato non conforme per nitrati e nitriti. Nel primo campione, reperito del pasto costituito da tonno crudo, prelevato in ospedale, è stata riscontrata una concentrazione di nitriti pari a 9879 mg/kg (come sale sodico). Nel secondo campione, rappresentato da preparazione (sushi) contenente tonno crudo prelevato presso la pescheria di provenienza del tonno contaminato, è stata rilevata una concentrazione di nitriti pari a 7615 mg/kg (come sale sodico). Le analisi dell'istamina e quelle microbiologiche hanno dato esito favorevole. L'attività di controllo ufficiale svolta sul territorio dallo SVIAOA della Asl di Teramo ha assicurato il ritiro dal mercato locale di prodotto sospetto, evitando, mediante l'ausilio del sistema RASFF (*Food and feed safety alerts*), che alimenti non sicuri raggiungessero il consumatore. In questo modo è stata arginata l'esposizione dei consumatori al pericolo derivante dal consumo di tranci di tonno che il Ministero della Salute aveva associato a diversi casi di intossicazione acuta per uso illecito di nitrati e nitriti utilizzati per prolungare i tempi di conservazione del prodotto e rafforzarne la colorazione rossa.

P22

CONTAMINAZIONE DA NOROVIRUS GI E GII IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* COMMERCIALIZZATO IN ITALIA

F. Righi¹, E. Galuppini¹, L. Mangeri¹, F. Tontarelli¹, C. Bacci², S. Persichitti³, S. Bonardi²

¹Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER), Dipartimento controllo alimenti, Brescia; ²Università degli Studi di Parma, Dipartimento di scienze medico-veterinarie, Parma; ³Scuola di specializzazione in "ispezione degli alimenti di origine animale", Università degli Studi di Parma, Italy

La cozza o mitilo (*Mytilus galloprovincialis*) rappresenta il mollusco bivalve di più largo consumo nel nostro Paese. Spesso consumato crudo o poco cotto, può trasmettere all'uomo agenti batterici e virali presenti nelle acque e trattenuti nell'epato-pancreas. Tra gli agenti più comuni si segnalano i Norovirus (NoV), responsabili di gastroenterite e diffusi a livello mondiale, la cui ricerca non è, tuttavia inclusa tra i criteri di sicurezza alimentare previsti dal Regolamento CE 2073/2005. I NoV, appartenenti alla famiglia dei *Caliciviridae*, hanno un genoma a RNA a singolo filamento di circa 7,5 kb. NoV GI e NoV GII sono identificati come patogeni per l'uomo. Si trasmettono principalmente per via oro-fecale, tramite l'ingestione di alimenti o acqua contaminati. Gli alimenti più implicati in casi di norovirus comprendono molluschi bivalvi consumati crudi o poco cotti, frutta e verdura. Il presente studio si prefigge lo scopo di valutare la prevalenza di contaminazione da NoV GI e GII in mitili di provenienza italiana e spagnola messi in commercio in Lombardia ed Emilia-Romagna. Nel periodo compreso tra novembre 2021 e giugno 2022 sono stati analizzati 71 lotti di *M. galloprovincialis* allevati in Italia (n=56) e in Spagna (n=15). Trentasette campioni sono stati prelevati presso due centri di depurazione/spedizione molluschi (rispettivamente 13 e 24 campioni), 24 presso un mercato all'ingrosso e 10 presso la grande distribuzione. L'estrazione dell'RNA virale e l'amplificazione mediante One-step real-Time PCR utilizzando primer e sonde specifiche per NoV GI e NoV GII sono state eseguite seguendo la Norma ISO/TS 15216-2:2019. La prevalenza e l'intervallo di confidenza (IC 95%) sono stati calcolati con il metodo di Wilson. La contaminazione da NoV ha interessato complessivamente 16 campioni di *M. galloprovincialis* sui 71 analizzati (22,5%; IC 95% 14,4 - 33,5). In base alla provenienza, la proporzione di campioni contaminati è risultata maggiore in quelli di origine spagnola (66,7%; IC 95% 41,7 - 84,2) rispetto a quelli di origine italiana (10,7%; IC 95% 3,9 - 17,2). NoV GI è stato identificato in 5 lotti di mitili (7,0%; IC 95% 5,0-21,5), con maggiore prevalenza nei campioni provenienti dalla Spagna (26,7%; IC 95% 10,9-51,9) rispetto a quelli italiani (1,8%; IC 95% 0,3-9,5). NoV GII è stato identificato in 15 lotti di mitili (21,1%; IC 95% 13,2-32,0), di cui 9 di provenienza spagnola (60,0%; IC 95% 35,8-80,2) e 6 di provenienza italiana (10,7%; IC 95% 5,0 - 21,5%). Quattro campioni di *M. galloprovincialis* (4/16; 25%), tre di provenienza spagnola e uno di provenienza italiana, hanno presentato contaminazione da entrambi i genotipi GI e GII. Il RASFF riporta che, nel 2020 il 7,7% dei casi segnalati su un totale di 651 allerte riguardavano contaminazione da NoV conseguenti alla presenza di microrganismi patogeni in prodotti alimentari. Nel nostro studio, come da precedenti indagini condotte in Italia, la contaminazione da NoV GII ha maggiore prevalenza rispetto a NoV GI. Data la percentuale elevata di campioni positivi (22,5%), le cozze possono essere considerate un alimento potenzialmente a rischio di infezione da NoV. In particolare, l'altissima prevalenza di lotti positivi provenienti dalla Spagna (10/15; 66,7%), commercializzati nel nostro paese, evidenzia la necessità di un monitoraggio da inserire nei piani di autocontrollo delle aziende importatrici.

P23

CONFRONTO DEL CONTENUTO PROTEICO E LIPIDICO IN TRE DIFFERENTI RAZZE DI BOVINE DA LATTE

M. Schirone¹, M. Florio², P. Visciano¹, F. D'Onofrio¹, A. Ianni¹, M. Luciani², F. Pomilio², M. Tittarelli², G. Martino¹

¹Facoltà di bioscienze e tecnologie agro-alimentari e ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo; ²Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italy

L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di determinare e quantificare il profilo proteico e lipidico di 15 campioni di latte fresco bovino, raccolto da tre differenti razze, quali Frisona (FR), Bruna Alpina (BA) e Pezzata Rossa Italiana (PR). Tutte le bovine, utilizzate nella sperimentazione, facevano parte dello stesso allevamento, risultavano omogenee per età e stadio di lattazione ed erano sottoposte allo stesso regime alimentare. Per determinare il profilo proteico sono stati utilizzati sei kit ELISA, aventi come target di analisi le seguenti proteine: alfa lattoalbumina (α -LA), immunoglobuline (IgG) totali, immunoglobuline 1 (IgG1), immunoglobuline 2 (IgG2), lattoperossidasi (LPO) e lattoferrina (LF). La determinazione della frazione lipidica nel latte è stata condotta, previa estrazione del grasso totale con il metodo ufficiale AOAC, seguita da separazione e identificazione degli esteri metilici degli acidi grassi (FAME) tramite gas cromatografo (GC) accoppiato a un rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID). I risultati ottenuti hanno mostrato differenze significative di concentrazione fra le tre razze per quanto riguarda le IgG totali. Analogo risultato è stato osservato per la LF, con un contenuto maggiore nei campioni ottenuti da BA e PR; questa proteina è generalmente correlata alla biodisponibilità del ferro e alla modulazione della funzione immunitaria. Il contenuto di IgG1, IgG2, LPO e α -LA è, invece, risultato significativamente più elevato nella FR. Riguardo al profilo lipidico, l'analisi ha evidenziato un maggiore contenuto di acidi grassi monoinsaturi (MUFA) nei campioni ottenuti da BA e PR. I MUFA, che hanno mostrato maggiori variazioni, sono stati specificatamente gli acidi trans-vaccenico e oleico, ai quali si ascrive la capacità di promuovere la formazione di lipoproteine ad alta intensità (HDL) rispetto a quelle a bassa intensità (LDL), generando una condizione favorevole per la salute del consumatore. Negli stessi campioni è stata anche evidenziata una più grande concentrazione di coniugati dell'acido linoleico (CLA) a cui, anche in questo caso, si attribuisce un elevato valore salutistico, legato soprattutto all'alto potenziale antiossidante e antinfiammatorio caratterizzante questi composti. Il presente studio ha evidenziato un quadro particolarmente interessante per quanto riguarda sia il benessere animale che gli aspetti qualitativi legati alla produzione latte derivante dalle razze bovine oggetto di analisi. In modo particolare, la maggiore concentrazione di LF e IgG totali indicherebbe un più grande indice di benessere da parte di BA e PR, sebbene il dato riguardante le altre frazioni proteiche debba essere ulteriormente valutato e caratterizzato. Nelle stesse razze, l'elevato contenuto di MUFA e CLA attribuisce al latte un indubbio vantaggio dal punto di vista qualitativo, con ripercussioni di notevole interesse per la salute del consumatore. Inoltre, si evidenzia come a parità di costi di alimentazione e gestione, le razze, meno selezionate da un punto di vista genetico, possano competere con quelle ad alta produzione, sia in termini di qualità che dal punto di vista del benessere animale, che da tempo, rappresenta un aspetto di rilievo capace di influenzare enormemente le scelte di un attento consumatore.

P24

CARATTERIZZAZIONE MICROBIOLOGICA DI LATTE BOVINO IN ALLEVAMENTI BIOLOGICI E CONVENZIONALI DELLA REGIONE PUGLIA

G. Costantino¹, G. Celano², M. Calasso², S. Tangorre¹, G.V. Celano²

¹Dipartimento di medicina veterinaria, Sezione sicurezza degli alimenti, UniBA, Bari; ²Dipartimento di scienze del suolo, della pianta e degli alimenti, sezione microbiologia degli alimenti, UniBA, Bari, Italy

Il settore lattiero-caseario biologico è sempre più attenzionato da

parte delle politiche comunitarie e dai consumatori, più attenti verso prodotti ecosostenibili ed al benessere animale. In bibliografia gli studi sono incentrati prevalentemente su confronti tra allevamenti convenzionali e biologici riguardanti gli aspetti chimici, economici ed ambientali, mentre risultano ancora limitati gli studi del microbiota caseario bio e convenzionale. L'obiettivo di questa ricerca, pertanto, è di valutare la composizione microbiologica tra matrici di allevamenti caseari biologici e convenzionali. Le valutazioni microbiologiche prendono in esame le seguenti matrici: latte, alimentazione animale, feci e suolo. Dieci allevamenti caseari (5 biologici e 5 convenzionali) sono stati selezionati. Da ciascuna azienda sono state recuperate 2 repliche biologiche di ciascuna matrice. Le determinazioni microbiologiche, previa diluizioni seriali hanno riguardato specifici substrati di crescita microbica per i seguenti microorganismi: aerobi totali, lattobacilli, lattococchi, enterococchi, *Enterobacteriaceae*, coliformi fecali, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Bacillus* spp., *Listeria* spp., *Campylobacter* spp. e lieviti. Le medie delle densità cellulari ottenute tra inverno e primavera per i latti crudi di massa hanno evidenziato che la carica microbica totale, i coliformi totali, le *Enterobacteriaceae*, gli enterococchi, presumibile *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., e *Bacillus* spp. sono risultate statisticamente più basse per i campioni biologici rispetto ai convenzionali. Lo stesso trend è stato osservato per i campioni di alimentazione animale dove la carica microbica totale, lattobacilli, lattococchi, coliformi totali, *Enterobacteriaceae*, enterococchi, stafilococchi, *Escherichia coli*, e *Salmonella* spp., sono risultati minori nei campioni biologici rispetto a quelli convenzionali. Nonostante il diverso approccio di allevamento convenzionale e biologico, i campioni fecali delle rispettive lattifere non hanno manifestato differenze significative ad eccezione lattococchi, *Salmonella* spp., meno presenti nei campioni biologici e *Pseudomonas* spp. che invece è risultata minore in feci di allevamenti convenzionali. Per il suolo, rispetto a tutte le altre matrici, non sono emerse differenze significative. Dai risultati preliminari è possibile ipotizzare che il microbiota coltivabile degli allevamenti bio e potenzialmente quello totale (studi metagenetici) possa essere caratterizzato da una maggiore qualità microbica, in virtù di una minore presenza di microorganismi alterativi e / o patogeni. Tale risultato, inoltre, ad eccezione del suolo e delle feci (il cui studio dei relativi microbioti è maggiormente condizionato dalle tecniche tradizionali coltura-dipendente, più limitate nel caso di matrici complesse) potrebbe essere correlabile anche ad una condizione di maggiore rispetto del benessere animale, ed alle condizioni generali di igiene e salute animale. Maggiori approfondimenti sono necessari per le future correlazioni mediante il completamento delle attività di ricerca, riguardanti analisi coltura-indipendente (analisi metagenetiche) ed analisi composizionali (chimico-fisiche e composti organici volatili).

P25

VALUTAZIONE QUALITATIVA DEL LATTE CRUDO PER LA PRODUZIONE DI LATTE ALIMENTARE

E. Tirloni¹, V. Locatelli², L. Sigala¹, C. Bernardi¹, S. Stella¹

¹Università degli Studi di Milano, Dipartimento di medicina veterinaria e scienze animali, ²ATS, Città Metropolitana di Milano, Italy

Per la valutazione della qualità del latte destinato alla produzione di latte alimentare o a prodotti caseari, il Regolamento CE n.

853/2004 considera i parametri di conta batterica totale (CBT) e numero di cellule somatiche (CS), che possono essere influenzati da diversi fattori. Questo studio ha l'obiettivo di valutare la qualità del latte crudo ricevuto da due stabilimenti a capacità industriale e destinato alla produzione di latte alimentare, considerando l'influenza di diversi fattori. Sono stati valutati i risultati analitici relativi ai parametri CBT e CS ottenuti dai prelievi effettuati presso 367 allevamenti lombardi che conferiscono il latte a due filiere per la produzione di latte alimentare nell'arco di tempo 2016-2020, per un totale di 89993 dati. I valori sono stati valutati considerando diversi fattori quali l'anno di conferimento, il mese/stagione e lo status dell'azienda per quanto riguarda le certificazioni aziendali (piani di controllo per Rinotracheite Infettiva Bovina-IBR, infezione da *Streptococcus agalactiae*, paratubercolosi) come indice indiretto di qualità di gestione dell'allevamento. I dati relativi ai piani volontari sono stati acquisiti mediante il portale SIVI Lombardia, fruibile dal veterinario ufficiale. I dati globali indicano una situazione soddisfacente dal punto di vista microbiologico, con una CBT media di circa 12.000 UFC/ml e la quasi totalità dei campioni con valori inferiori a 100.000 UFC/ml. Anche per quanto riguarda le cellule somatiche, la situazione è buona con un valore medio di circa 203.000 cellule/ml. Per quanto riguarda l'evoluzione annuale del livello di contaminazione, non è stato rilevato un chiaro trend. A livello stagionale invece si è riscontrato un significativo aumento dei valori di CBT e CS nei mesi estivi, che perdura nei mesi autunnali. L'analisi dei dati sulla base delle certificazioni sanitarie ha mostrato alcune tendenze significative. Suddividendo le categorie di animali in base al rischio, è stato infatti possibile rilevare valori significativamente maggiori di CBT nelle classi di rischio superiori per quanto riguarda l'IBR e l'infezione da *Streptococcus agalactiae*, mentre valori significativamente più alti del tenore di CS caratterizzavano la classe di rischio superiore per quanto riguarda la paratubercolosi. Alla luce dei risultati ottenuti, è stato possibile valutare positivamente la situazione igienica del latte conferito agli stabilimenti considerati. La funzione di questa analisi retrospettiva è quella di fornire un potenziale strumento di indirizzo per l'applicazione dei piani di monitoraggio da parte degli Operatori del Settore Alimentare e per le procedure di valutazione dei fornitori.

P26

CLOSTRIDIUM SPP NELLA TRASFORMAZIONE CASEARIA: IDENTIFICAZIONE RAPIDA E SIMULTANEA DI C. TYROBUTYRICUM, C. BUTYRICUM E C. SPOROGENES NEL LATTE

I. Floris, A. Romano, G. Marellò, F. Martucci, D.M. Bianchi, L. Decastelli

S.C. sicurezza e qualità degli alimenti, istituto zooprofilattico sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy

Nel settore lattiero-caseario, e in particolare per i prodotti a medio-lunga stagionatura, i batteri appartenenti al genere *Clostridium* rappresentano, da sempre, una problematica tecnologica, oltre che di sicurezza. Questi bacilli Gram-positivi sono capaci, in condizioni avverse, di produrre delle strutture di resistenza (spore); in condizioni anaerobiche e durante la stagionatura, il metabolismo attivo delle forme vegetative causa alterazioni quali fermentazioni anomale e gonfiore tardivo, che danneggiano irreparabilmente il prodotto. I metodi analitici per la ricerca e identificazione di *Clostridium* spp si basano, tradizionalmente, su protocolli microbiologici che richie-

gono diversi giorni per la conferma di una eventuale positività. Lo scopo di questo lavoro è di ottimizzare un metodo basato su una multiplex PCR che possa rilevare, in modo simultaneo e rapido, la presenza di spore di *C. tyrobutyricum*, *C. butyricum*, *C. sporogenes*, le specie di maggior interesse per il settore caseario. Per la messa a punto del metodo sono stati utilizzati i ceppi certificati di *C. tyrobutyricum* (ATCC® 25755™), *C. butyricum* (ATCC®19398™), *C. sporogenes* (ATCC® 11437™). Per la verifica del limite di rilevazione del metodo sono stati utilizzati campioni di latte UHT, contaminati con gli stessi ceppi alle concentrazioni da 10⁷ UFC/mL a 10 UFC/mL. La fase di estrazione del DNA da ceppi e da matrice è stata eseguita utilizzando il kit MagMAX™ CORE Mastitis & Panbacteria Module seguendo il protocollo fornito dalla ThermoFisher scientific. I primer specifici per ogni microrganismo sono stati reperiti in bibliografia; il profilo termico è stato ottimizzato per la Taq QIAGEN Multiplex PCR Kit. Gli amplificati sono stati analizzati mediante elettroforesi capillare con lo strumento QIAxcel Advanced System (QIAGEN) e le dimensioni attese degli amplificati per ciascuno dei microrganismi target sono le seguenti: - 549 pb per il *C. sporogenes*; - 312 pb per il *C. butyricum*; - 210 pb per il *C. tyrobutyricum*. I risultati delle prove sui ceppi hanno mostrato elevata specificità per tutti i 4 target. In termini di sensibilità in matrice latte, per il *C. sporogenes* e il *C. butyricum* sono risultate rilevabili le concentrazioni da 10⁷ UFC/mL a 10² UFC/mL. Per migliorare le performance di sensibilità del metodo, i campioni contaminati con concentrazioni inferiori sono state sottoposte a prearricchimento (37°C per 18 h, in TPGY, in condizioni anaerobiotiche): è stato possibile abbassare il limite di rilevazione a 10 UFC/mL per il *C. sporogenes* e 1 UFC/mL per il *C. butyricum*. La PCR multiplex ottimizzata in questo studio permette di conoscere l'eventuale concentrazione di Clostridi nel latte nei caseifici prima che sia avviata la fase di trasformazione o almeno di stagionatura. L'elevata sensibilità del metodo (1-10 ufc/mL di *C. butyricum* e *C. sporogenes* rispettivamente) sono utili per destinare il latte a produzioni differenziate, prevenendo le alterazioni nei formaggi a lunga stagionatura. La possibilità di rilevare in modo simultaneo la presenza di diverse specie del genere *Clostridium* rappresenta un ulteriore vantaggio permettendo di ridurre i costi e il tempo di analisi.

Progetto finanziato con fondi POR FESR 2014-2020, "TECH4MILK", CUP J15J19000200006.

P27

SPETTROMETRIA DI MASSA AD ALTA RISOLUZIONE APPLICATA ALL'ANALISI LIPIDOMICA DEL FORMAGGIO CAMEMBERT TRATTATO CON RAGGI-X

M. Campaniello¹, A. Mentana¹, R. Zianni², M. Tomaiuolo¹, M. Iammarino¹, V. Nardelli¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Laboratorio Nazionale di Riferimento per il trattamento degli alimenti e dei loro ingredienti con radiazioni ionizzanti, Foggia; ²Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Foggia, Foggia, Italy

Il trattamento con raggi X è utilizzato in ambito alimentare allo scopo di preservare la qualità igienica degli alimenti e di prolungarne la shelf-life. Poiché diversi patogeni possono contaminare la filiera di produzione dei formaggi, anche in presenza di buone pratiche di igiene, sarebbe auspicabile attuare i processi di sanificazione successivamente al confezionamento. L'irraggiamento dei prodotti lattiero-caseari però non è consentito, ad eccezione del

Camembert per il quale è previsto il trattamento ad una dose massima di 2,5 kGy. In questo lavoro, grazie all'uso della spettrometria di massa ad alta risoluzione ed un approccio untargeted, è stato valutato il profilo lipidico del Camembert irraggiato con raggi X a dose superiore al limite consentito, sia allo scopo di individuare le eventuali differenze tra il formaggio trattato e non trattato, sia per applicare le scienze omiche nel campo della sicurezza alimentare. Le analisi sono state eseguite su 4 campioni di Camembert acquistati nei supermercati locali. Ciascuno dei campioni è stato suddiviso in due aliquote: una non irraggiata (NI) e una irraggiata con raggi-X a 3 kGy (IRR). L'estrazione dei lipidi è stata eseguita con il metodo Folch. L'analisi strumentale ha previsto l'impiego di cromatografia liquida ad alte prestazioni accoppiata a spettrometria di massa Orbitrap ad alta risoluzione (UHPLC-Q-Orbitrap-MS). I dati ottenuti sono stati elaborati tramite opportuna analisi chemiometrica. Dopo l'estrazione Folch e l'acquisizione strumentale, i risultati sono stati elaborati mediante il software LipidSearch™ che fornisce l'identificazione affidabile e accurata dei lipidi. In totale sono stati identificati 387 lipidi, suddivisi in 11 sottoclassi che includono colesterolo, acidi bismetilfosfatidici, acidi fosfatidici, ceramidi, digliceridi, esosil ceramidi, fosfolipidi e lisofosfolipidi, sfingomieline, monogalattosil diacilglicerolo e trigliceridi. In particolare i fosfolipidi, i digliceridi e i trigliceridi ossidati hanno mostrato maggiore variabilità in funzione della dose di irraggiamento, per cui, con l'ausilio del software R, è stata eseguita un'analisi chemiometrica dei dati ottenuti. L'elaborazione Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) dei dati, dopo opportuno processo di ottimizzazione dei parametri e validazione del modello e test ANOVA hanno individuato 30 lipidi acquisiti in modalità negativa e 10 lipidi acquisiti in modalità positiva quali molecole che permettono di discriminare i campioni irraggiati da quelli non irraggiati. Tuttavia tali alterazioni non compromettono il valore nutrizionale dell'alimento poiché coinvolgono solo il 10% dell'intero lipidoma. In questo lavoro un approccio untargeted, mediante spettrometria di massa ad alta risoluzione UHPLC-Q-Orbitrap-MS, è stato impiegato per lo studio delle modifiche apportate dall'irraggiamento alla frazione lipidica del formaggio Camembert. L'impegno sinergico di moderne tecnologie strumentali e software di elaborazione dati, unitamente ad una appropriata analisi chemiometrica dei risultati ottenuti, si dimostrano strumenti efficaci per evidenziare le differenze tra i campioni non trattati e quelli trattati con radiazioni ionizzanti al fine della valutazione della sicurezza alimentare dei prodotti, ipotizzando nuove frontiere per il controllo ufficiale degli alimenti irraggiati.

Lavoro finanziato dal ministero della salute progetto gr-2018-12367064.

P28

VALUTAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ PROTEOLITICA DI MICROORGANISMI POTENZIALMENTE ALTERANTI ISOLATI DA LATTE CRUDO

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

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO), Italy

È noto come alcuni microorganismi comunemente presenti nel latte crudo siano causa di fenomeni alterativi di diversa entità. Il genere *Pseudomonas*, ad esempio, comprende batteri responsabili di svariate alterazioni nel latte e nei prodotti derivati, quali pigmentazioni

anomale, odori sgradevoli, variazioni di consistenza. Molti batteri appartenenti a questo gruppo sono in grado di produrre proteasi termostabili la cui attività alterante potrebbe essere mantenuta anche dopo i trattamenti di pastorizzazione. Lo studio di detti enzimi, pertanto, risulta fondamentale per prevenire e minimizzare i danni ad essi ascrivibili dopo i trattamenti termici della materia prima. Lo scopo del presente studio era quello di caratterizzare l'attività proteolitica di alcuni microorganismi isolati da latte crudo, nonché di valutare la stabilità termica degli enzimi da essi prodotti tramite un protocollo basato sull'utilizzo di terreni di coltura specifici. Il presente studio è stato condotto su 56 ceppi, appartenenti ai generi *Pseudomonas* e *Acinetobacter*, isolati da latte crudo proveniente dalle cisterne di raccolta della Centrale del Latte di Torino. Per la valutazione preliminare dell'attività proteolitica, un'aliquota (0,001 ml) di una coltura fresca (48 h a 25°C in TSB) di ogni ceppo veniva seminata su piastre di Agar Calcio Caseinato (CCA), successivamente incubate a 6°C (120 h) e 25°C (48 h). L'attività proteolitica veniva valutata in base alla presenza/assenza di un alone di precipitazione intorno alla zona di crescita batterica. In una seconda fase, si procedeva alla valutazione della stabilità al trattamento termico delle proteasi prodotte dai microorganismi. Le colture batteriche (25°C per 72 h in Skim Milk) venivano centrifugate (4000 rpm per 20 min) e il surnatante veniva trattato a 72°C per 15 secondi, al fine di simulare un trattamento di pastorizzazione ad alta temperatura. Successivamente, veniva aggiunto al surnatante 1 ml di una soluzione di sodio azide (0,1%) per impedire qualsiasi crescita microbica. Un'aliquota (0,2 ml) di surnatante così trattato veniva inoculata (in triplo) in piastre di CCA in cui erano stati preventivamente creati dei fori da 6 mm di diametro. Dopo incubazione a 37°C per 5 giorni, si procedeva alla lettura delle piastre; la stabilità termica degli enzimi veniva valutata in base alla presenza di un alone trasparente intorno al punto di inoculo del surnatante. Lo screening iniziale permetteva di attestare l'attività proteolitica di 35 ceppi a 6°C e 36 ceppi a 25°C. Per quanto concerne la stabilità degli enzimi al trattamento termico, per 19 ceppi è stato rilevato un alone di proteolisi intorno al punto di inoculo del surnatante trattato termicamente. I 19 ceppi positivi appartenevano tutti al genere *Pseudomonas* e, nello specifico, alle specie *P. brenneri* (n. 3), *P. fluorescens* (n. 1), *P. gessardii* (n. 3), *P. rhodesiae* (n. 11), *P. proteolytica* (n. 1). Il protocollo utilizzato nel presente studio ha permesso di attestare la stabilità termica di alcuni enzimi proteolitici prodotti dai ceppi di *Pseudomonas* oggetto della sperimentazione. Le proteasi si mostravano in grado di espletare la loro azione anche dopo i trattamenti di pastorizzazione e, pertanto, potrebbero essere causa di fenomeni alterativi nei prodotti anche in assenza di batteri vitali. Sono necessari ulteriori studi finalizzati alla caratterizzazione di altri enzimi termostabili potenzialmente alteranti (lipasi) prodotti dai batteri del genere *Pseudomonas*.

P29

AMICUS MEUS, INIMICUS INIMICI MEI. API, VITICOLTURA E SCAPHOIDEUS TITANUS: UN RAPPORTO DIFFICILE

P. Mogliotti¹, A. Garrone¹, C. Guasco¹, R. Possidente², N. Vitale², E. Trabunella¹, R. Nappi³, E. Alesso³, B. Rutigliano³, F. Brusa¹

¹Istituto zooprofilattico sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, centro apistico regionale, Asti; ²Istituto zooprofilattico sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, S.S. Osservatorio delle regioni, Torino; ³Istituto zooprofilattico sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, S.S. Cuneo, Cuneo, Italy

Il Piemonte è un territorio ad elevata produttività apistica e a spiccata vocazione viticola. In questo campo l'utilizzo di prodotti fitosanitari è aumentato con la diffusione della flavescenza dorata, veicolata da un insetto, lo *Scaphoideus titanus* (o cicalina della flavescenza dorata). Da anni vengono segnalati fenomeni di mortalità e spopolamento di api in molti paesi, tra cui l'Italia. Le ricerche evidenziano l'esistenza di una concausa di fattori critici, tra cui i trattamenti fitosanitari. Lo scopo del progetto è di ampliare le conoscenze attuali in merito all'impatto dell'utilizzo di fitofarmaci in viticoltura nei confronti delle api, nonché il loro potenziale ruolo quali bioindicatori di trattamenti utilizzati sui vigneti. Sono stati campionati quattro apiari nella Provincia di Asti, a Mongardino, Castelnuovo Don Bosco, Cocconato, San Marzanotto, all'interno dei quali erano presenti almeno dieci alveari. Tutti gli apiari erano vicini a vigneti, sia convenzionali che biologici. Contestualmente è stato sviluppato un metodo multiresiduale per la determinazione dei fitosanitari in campioni di api tramite esami analitici con gascromatografia e cromatografia liquida applicata alla spettrometria di massa tandem per rilevare la presenza di 252 principi attivi. I dati ottenuti sono stati elaborati mediante il software SAS. In tutti gli apiari è stata riscontrata almeno una volta la presenza di Spiroamina, mentre in tre apiari su quattro è stata riscontrata la presenza di almeno un principio attivo utilizzato nella lotta contro *S. titanus*. L'apiario in cui è stata individuata una quantità minore di residui rispetto agli altri è stato quello sito a Cocconato, il più lontano dai vigneti, inoltre lo stesso apiario è certificato biologico. Il secondo apiario in cui è stata trovata una quantità minore di fitofarmaci è stato quello di San Marzanotto, vicino a vigneti certificati biologici, inoltre la forte presenza di tau-fluvalinate era giustificata dall'utilizzo di strisce contenenti questo principio attivo per uso apistico contro la Varroosi delle api (Apistan). La perdita di api non rappresenta solo un problema di tipo economico per il settore, ma è fortemente correlata al declino di piante spontanee e alla compromissione dell'equilibrio e della complessità degli ecosistemi. Le analisi effettuate per la ricerca di fitofarmaci hanno evidenziato che la lontananza da vigneti, così come la conduzione biologica dell'apiario stesso, possano influire positivamente sul benessere di tali insetti. Il monitoraggio della presenza di residui nel materiale apistico e l'influenza dei trattamenti usati in viticoltura sulla salute delle api potrebbero porre le basi per migliorare le decisioni nelle politiche agricole regionali, oltre che sensibilizzare al problema gli operatori del settore. In conclusione, è possibile affermare che questi insetti pronubi sono in grado di percepire con molta prontezza dinamiche di evoluzione in atto negli ambienti in cui sono presenti e allo stesso tempo di segnalarle. È quindi condizione essenziale per attuare azioni atte a ridurre o eliminare l'impatto di "stressori di ecosistema", la capacità di osservare, organizzare e interpretare questi segnali. I programmi di biomonitoraggio a lungo termine oltre ad aumentare le conoscenze scientifiche possono fornire informazioni preziose per le politiche ambientali e dovrebbero essere considerati componenti fondamentali delle politiche economiche.

P30

VALUTAZIONI MICROBIOLOGICHE SULLE SUPERFICI IN VARI SUPERMERCATI DELLA GRANDE DISTRIBUZIONE ORGANIZZATA DEL CENTRO ITALIA

P. Visciano¹, M. Schirone¹, M. Mazzocchi¹, G. Scorzetti², L. Giosia³, A. Paparella¹

¹Facoltà di bioscienze e tecnologie agro-alimentari e ambientali, Università

degli Studi di Teramo, Teramo; ²Magazzini Gabrielli S.p.A., Ascoli Piceno; ³Bucciarelli Laboratori s.r.l., Ascoli Piceno, Italy

La presente indagine mira a valutare il grado di igiene delle superfici a contatto con gli alimenti (FCS, Food Contact Surfaces) all'interno di diversi supermercati appartenenti a una catena della Grande Distribuzione Organizzata (GDO) del centro Italia, anche alla luce del recente requisito normativo sulla "cultura della sicurezza alimentare" previsto dal Regolamento (UE) 382/2021, che richiede una sempre più stringente e approfondita formazione del personale nell'ambito delle procedure di autocontrollo. In totale sono stati campionati 59 punti vendita dislocati in 5 regioni italiane (Marche, Abruzzo, Umbria, Lazio e Molise) nel periodo 2015-2022. Per ogni punto vendita, visitato 2-3 volte l'anno, sono stati eseguiti dieci campionamenti su diverse superfici nei reparti macelleria, peschieria, ortofrutta e banco al taglio. Le analisi hanno riguardato la ricerca di microrganismi patogeni (*Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.) e la conta di indicatori di igiene, quali carica mesofila aerobia, coliformi totali, *Escherichia coli* beta-glucuronidasi positivi e stafilococchi coagulasi positivi. Nel periodo indagato, è stata rilevata eccezionalmente la presenza di *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp./100 cm² rispettivamente su una parete della cella frigo del reparto ortofrutta e nella vasca del ghiaccio del reparto peschieria. La carica mesofila aerobia variava da un minimo di <1 a un massimo di 2600 UFC/cm², valore osservato su una parete della cella frigo nel reparto ortofrutta. Tra le altre superfici esaminate, i valori più elevati sono stati riscontrati sul tagliere in teflon nel reparto macelleria (2160 UFC/cm²), la vasca del ghiaccio nel reparto peschieria (1900 UFC/cm²) e il tritacarne e l'affettatrice nel reparto macelleria, con una carica di 1600 e 1300 UFC/cm², rispettivamente. Valori massimi di 48, 8 e 2 UFC/cm² sono stati osservati per coliformi, *E. coli* beta-glucuronidasi positivi e stafilococchi coagulasi positivi, rispettivamente. Nel complesso, i risultati delle analisi sulle superfici depongono a favore di una corretta applicazione delle procedure di sanificazione nei supermercati oggetto di indagine. Tuttavia, è stata evidenziata un'ampia variabilità del dato analitico tra i punti vendita, che potrebbe essere attribuibile a un diverso grado di consapevolezza e adesione alle pratiche igieniche da parte dei singoli gestori. Attualmente, non esistono criteri microbiologici per le FCS, benché diverse linee guida, tra cui quelle per l'applicazione del Regolamento (CE) 2073/2005, raccomandino il campionamento di queste superfici in diverse tipologie di aziende. Diversi organismi tra cui il Public Health Laboratory Service del Regno Unito hanno suggerito un limite di accettabilità di 1000 UFC/cm² per le FCS, mentre altri criteri specifici sono contenuti nelle linee guida delle catene della GDO. In caso di superamento di tali criteri nei punti vendita esaminati, si rende necessario implementare le procedure igienico-sanitarie al fine di garantire la commercializzazione di prodotti sicuri e di qualità.

P31

ANALISI DELL'INTERO PROTEOMA DI UN CEPPO DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* ESPOSTO A DIFFERENTI FATTORI DI STRESS

F. D'Onofrio¹, M. Luciani², P. Visciano¹, L. Iannetti², F. Pomilio², M. Tittarelli², A. Paparella¹, M. Schirone¹

¹Facoltà di bioscienze e tecnologie agro-alimentari e ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo; ²Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italy

Listeria monocytogenes è l'agente eziologico della listeriosi umana, malattia caratterizzata da un elevato tasso di letalità e determinata prevalentemente dall'ingestione di alimenti contaminati, come latte crudo e prodotti lattiero-caseari, prodotti a base di carne, prodotti della pesca, frutta e vegetali, ma soprattutto prodotti pronti al consumo (RTE, Ready To Eat). Microrganismo ubiquitario, capace di sopravvivere a fattori stressanti (per esempio ambiente acido e osmotico, e alte temperature), è un patogeno opportunista intracellulare che induce la propria internalizzazione in diversi tipi di cellule (macrofagi, cellule epiteliali, endoteliali e nervose, fibroblasti ed epatociti). Il seguente studio ha come obiettivo l'analisi dell'intero proteoma di un ceppo 1/2a di *L. monocytogenes* isolato da un prodotto a base di carne, al fine di identificare gli antigeni coinvolti nei pathways di virulenza del patogeno. Il ceppo è stato coltivato a quattro differenti combinazioni di pH, temperatura e concentrazione salina (NaCl%): A-controllo) 37°C, pH 7,0, NaCl 0,5%; B) 37°C, pH 5,5, NaCl 7%; C) 12°C pH 7, NaCl 0,5%; D) 12°C, pH 5,5, NaCl 7%. Per ciascuna condizione sono stati allestiti triplicati biologici e tecnici. Le cellule batteriche in fase esponenziale (O.D.=600nm) sono state raccolte e lavate con Phosphate Buffer Saline (PBS) 0.1 M mediante centrifugazione (4,600 g a 4°C). Le proteine sono state estratte con CellLytic B Cell Lysis Reagent e e CellLytic IB Inclusion Body Solubilization Reagent, precipitate mediante acido tricloroacetico (TCA) 6,1 N, lavate con acetone, risolubilizzate in "solubilization buffer" (10 mM Tris-HCl pH7.5, 200 mM NaCl) e quantificate mediante Pierce BCA protein Assay Kit. Gli estratti proteici sono stati elaborati mediante elettroforesi monodimensionale su gel di poliaccrilammide in presenza di sodio dodecil solfato (1D SDS-PAGE), visualizzati mediante colorazione con Blue di Coomassie e analizzati mediante Immunoblot (IB), incubando le membrane con sieri ovini positivi e negativi per *L. monocytogenes*, al fine di identificare immunocomplessi antigene-anticorpo (ICs-Ag-Ab) specifici per ciascuna condizione di crescita. I profili proteici ottenuti mediante 1D SDS-PAGE risultano essere complessi e significativamente differenti in funzione delle condizioni di crescita alle quali il microrganismo era esposto. I risultati ottenuti con l'IB evidenziano la presenza di specifici ICs-Ag-Ab a 35 kDa per le condizioni A, B e C, a 45 kDa per C, a 55 kDa e 60 kDa per D e a 80 kDa per B. Le analisi preliminari del proteoma di *L. monocytogenes* evidenziano l'espressione di diversi pattern proteici nello stesso ceppo coltivato con differenti combinazioni di fattori di stress. La capacità del patogeno di sopravvivere e moltiplicarsi ad ampi range di temperatura, pH e concentrazione salina, contribuisce a renderlo ubiquitario e a farlo sopravvivere negli ambienti di lavoro delle aziende alimentari. Al fine di caratterizzare l'intero proteoma espresso nelle differenti condizioni e identificare specifici biomarker di virulenza coinvolti nella patogenesi della listeriosi, saranno condotte ulteriori analisi mediante spettrometria di massa tandem (UHPLC-MS/MS). I risultati saranno sottoposti a data analysis mediante differenti software di bioinformatica al fine di sub-localizzare le proteine e individuare eventuali biomarker di immunogenicità.

P32

VALUTAZIONE DI UN METODO ALTERNATIVO PER LA DETECTION DI ORGANISMI GENETICAMENTE MODIFICATI (OGM)

B. Cioffi¹, A. Esposito¹, Y.T.R. Proroga¹, F. Capuano¹, E. Arletti², M. Vietina², O. Di Maro¹

¹Istituto zooprofilattico sperimentale del Mezzogiorno, Dipartimento coordi-

namento sicurezza alimentare, Portici (NA), Italy; ²Generon S.p.A., San Prospero (MO), Italy

Il Reg. (CE) 625/2017 introduce, a latere della tutela della salute animale, della sanità delle piante e del benessere degli animali anche il concetto di protezione dell'ambiente in rapporto alla presenza di OGM e prodotti fitosanitari. Ad oggi, negli Stati Membri, l'immissione sul mercato di eventi contenenti OGM può avvenire esclusivamente mediante autorizzazione da parte della Commissione Europea così come previsto dal Reg. (CE) n. 1829/2003. Il medesimo regolamento prevede, inoltre, che qualsiasi alimento contenente OGM deve riportare in etichetta l'indicazione: "contiene (nome dell'organismo o nome dell'ingrediente) geneticamente modificato". Tale prescrizione non è obbligatoria se il contenuto in OGM risulta inferiore allo 0.9% degli ingredienti alimentari, considerati individualmente, purché tale presenza sia accidentale o tecnicamente inevitabile. Una normativa così stringente trova la sua attuazione sul territorio nazionale, attraverso Piani di Monitoraggio volti a valutare il rispetto dell'etichettatura e la presenza di eventi non-autorizzati, per i quali non è prevista alcuna tolleranza. Scopo del nostro lavoro è stato mettere a punto e valutare la performance di un metodo alternativo ai metodi di riferimento del Centro Riferenza Nazionale OGM (CROGM). Partendo dai metodi accreditati presso i nostri laboratori e indicati dal CROGM, abbiamo realizzato in collaborazione con la ditta Generon S.p.A., 14 kit di biologia molecolare che, utilizzando le sequenze dei primers di riferimento, ci consentissero di rilevare sia geni endogeni che gli elementi di screening, con una netta riduzione dei costi. Per ogni kit sono stati valutati sensibilità, specificità e LOD95 su DNA estratto, mediante l'uso del Kit DNA Easy Plant mini Kit (Qiagen), da materiali di riferimento certificati (CRM). Per i geni endogeni sono stati testati 7 kit simplex contenenti i reagenti per la detection delle seguenti specie: soia, mais, colza, lino, frumento, patata, barbabietola da zucchero. Per la ricerca degli elementi di screening sono stati testati 5 kit simplex specifici per ogni gene (P35S, Gene NTPII, TNOS, Gene CP4-EPSPS, Gene PAT) e 2 kit multiplex: uno specifico per Gene CP4-EPSPS, TNOS e CTP2 e l'altro per P35S, PAT, NPTII e CTP. Per ogni analita si è ottenuto il 100% di specificità e di sensibilità. I risultati ottenuti per il calcolo del LOD95 per ogni gene endogeno ed elemento di screening possono ritenersi soddisfacenti, essendo per i primi tutti ≤ 4 cg/ μ l e per i secondi tutti ≤ 18 cg/ μ l, con l'unica eccezione del valore ottenuto nell'utilizzo della quadruplex per il rilevamento del CTP dove il LOD95 è risultato pari a 35 cg/ μ l. I tempi di esecuzione della prova sono stati ridotti di 24h rispetto al metodo di riferimento, mentre i costi complessivi risultano ridotti del 20%. In conclusione, l'utilizzo di questi kit consente una considerevole riduzione dei tempi di esecuzione e una semplificazione del processo di analisi, pur mantenendo performance equivalenti ai metodi indicati dal Centro di Riferenza Nazionale per la ricerca di OGM (CROGM) sia nella detection dei geni endogeni che degli elementi di screening.

P33

FOOD DELIVERY E SICUREZZA ALIMENTARE: INDAGINE NELLA CITTÀ DI PISA

R. Nuvoloni, F. Cavallaro, F. Marconi, F. Pedonese

Dipartimento di scienze veterinarie, Università di Pisa, Italy

Durante la pandemia e il conseguente lockdown abbiamo assistito

ad una crescita esponenziale del food delivery, con un forte aumento della domanda, ma anche dell'offerta e sempre più ristoranti che si registrano sulle piattaforme di consegne a domicilio. Il food delivery, che ha rappresentato un'ottima soluzione all'isolamento forzato avvenuto durante la pandemia, oggi, da proposta di consumo, è diventato quindi abitudine di consumo. Tale pratica di commercio degli alimenti può però nascondere non pochi rischi, legati soprattutto alle condizioni di trasporto, che possono favorire la contaminazione o lo sviluppo microbico. È quindi più che mai fondamentale garantire l'applicazione delle misure igieniche in tutte le fasi, dalla preparazione fino alla consegna, a garanzia della sicurezza dei prodotti. Allo scopo di valutare la qualità del servizio food delivery offerto nella Città di Pisa, è stata svolta un'indagine su piatti pronti ordinati tramite tre piattaforme di delivery operanti in questa città. Per ciascuno di questi prodotti sono stati registrati i seguenti parametri: informazioni sugli allergeni fornite al momento dell'ordine, rispetto dei tempi di consegna, integrità delle confezioni, temperatura al momento della consegna. La misurazione della temperatura è stata effettuata mediante un termometro digitale a led con sonda ad infissione. Per ciascun prodotto sono state effettuate tre misurazioni a cuore del prodotto ed è stato ottenuto un valore medio. Sono stati presi in esame 60 piatti pronti: 30 caldi e 30 freddi, preparati presso diverse tipologie di esercizi commerciali (fast-food, ristoranti etnici, "all you can eat" cino-giapponesi, Pakerie), tutti siti nel centro della Città di Pisa. Per quanto riguarda le informazioni fornite dai ristoranti riguardo agli allergeni, la lista degli ingredienti riportata nei menù non sempre compare sull'applicazione, ma viene chiesto al consumatore di rivolgersi direttamente al ristorante. Al momento dell'arrivo, nella quasi totalità dei casi, le confezioni sono risultate integre e i tempi di consegna sono stati rispettati. Per quanto riguarda la temperatura, il valore medio era, sia per i piatti freddi che per quelli caldi, al di fuori dei previsti range di sicurezza. Tali dati confermano quanto rilevato da altri autori in altre città ed anche la necessità di un quadro normativo preciso su ruoli, responsabilità e limiti di riferimento per un fenomeno in forte espansione.

P34

VALUTAZIONE DELL'EFFETTO DEL CONFEZIONAMENTO IN ATP SUL PROFILO MICROBIOLOGICO E SULL'ESTENSIONE DELLA SHELF-LIFE DEI CONVENIENCE FOOD DISTRIBUITI NEGLI SMART FOOD LOCKERS

M. Castrica, F. Stefano, C.M. Balzaretto

Dipartimento di medicina veterinaria e scienze animali, Università degli Studi di Milano, Lodi, Italy

Il desiderio di praticità, sostenibilità e flessibilità emerge sempre più forte nella società di oggi. L'esperienza del *lockdown* ha costretto a rivedere le modalità di fruizione del servizio mensa e delle logiche lavorative in termini di spazio e tempo. Nell'ottica di assicurare un uso sempre più razionale delle risorse e delle materie prime, oltre che una varietà di piatti e proposte che non sarebbero possibili in una cucina tradizionale, la ristorazione collettiva sta sviluppando un'offerta innovativa in grado di sfruttare le tecniche di cottura, conservazione e distribuzione più all'avanguardia, consentendo di estendere la shelf-life dei piatti e assicurando al tempo stesso una grande flessibilità di consumo. Prolungare la *shelf-life* permette di sviluppare nuove linee di piatti pronti (*convenience food*) che si prestano non solo ad essere consumati nei tradizionali format di ristorazione, ma anche di inserirsi nel più moderno mercato della

distribuzione automatica mediante l'utilizzo di *smart food locker* integrati a un'app, grazie alla quale ogni utente può scegliere e prenotare in anticipo i pasti e pagarli tramite app o contactless. Lo scopo del seguente studio, condotto presso un centro cottura di una società internazionale di ristorazione collettiva (sito in Emilia-Romagna), è stato valutare l'andamento del profilo microbiologico dei convenience food confezionati in atmosfera protettiva (30% CO₂ e 70% N₂) e erogati mediante distributori automatici refrigerati, ipotizzando l'estensione della shelf-life da 10 a 16 giorni. È stata dapprima effettuata un'operazione di categorizzazione delle 531 ricette in produzione presenti nei diversi menù; successivamente, sono state individuate 251 matrici e raggruppate in 9 macrocategorie. L'operazione di categorizzazione è stata compiuta al fine di ridurre il carico di analisi e permettere la creazione di un criterio di verifica microbiologica da adottare in caso di inserimento in menù di una nuova ricetta. La valutazione del profilo microbiologico è stata effettuata sulle prime 74 matrici ad oggi disponibili; per ognuna di esse, sono state prelevate e analizzate 10 unità campionarie all'inizio della shelf-life (T0) e 10 unità campionarie a fine *shelf-life* (T16). Su tutti i campioni, sono state eseguite le seguenti determinazioni analitiche: (i) carica mesofila totale a 30°C, (ii) conta di *Enterobacteriaceae*; (iii) Lieviti e Muffe. Mentre, su alcune specifiche matrici sono stati aggiunti i parametri quali: *Bacillus cereus* presunto; Stafilococchi coagulasi positivi, anaerobi solfito riduttori e *Clostridium perfringens*. L'interpretazione dei risultati è stata condotta tenendo in considerazione i limiti microbiologici di accettabilità proposti nelle linee guida del Ce.I.R.S.A. della Regione Piemonte e valutando gli indicatori di statistica descrittiva quali: media, errore standard e prevalenza, calcolati utilizzando il software SPSS Statistics version 25 (IBM, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). In conclusione, la comparazione con i limiti microbiologici e l'analisi statistica dei dati ottenuti ha evidenziato una serie di criticità riconducibili prevalentemente alle modalità di utilizzo di alcuni ingredienti e alle procedure e/o fasi del processo operativo. Questo ha permesso di formulare misure preventive e correttive per ottimizzare la durabilità del prodotto finito, requisito fondamentale per l'applicazione di un servizio di ristorazione automatica e l'adozione di un sistema logistico avanzato.

P35

AZIONE COMBINATA DI OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DI PATOGENI DI INTERESSE ZOOONOSICO

F. Buccioni, A. Serio, F. Maggio, C. Rossi, C. Purgatorio, C. Lopez Chavez, A. Paparella

Università degli Studi di Teramo, Italy

Si stima che oltre il 60% delle malattie infettive emergenti sia di natura zoonosica. In particolare, in ambito zootecnico, l'intensificazione dei sistemi produttivi è stata correlata all'incremento del rischio zoonosico, che si pone in primo piano nelle strategie di sanità pubblica, soprattutto in considerazione della crescente incidenza di infezioni da microrganismi multiresistenti. Di conseguenza, nella microbiologia degli alimenti, così come in quella clinica, cresce l'interesse verso strategie di contenimento dei microrganismi patogeni, che presentino basso rischio di resistenza. Tra queste si inseriscono gli oli essenziali (OE), fitocomplessi la cui attività antimicrobica coinvolge diversi meccanismi, rendendo remota la possibilità di acquisizione della resistenza verso una miscela complessa di composti. Per ridurre le concentrazioni d'uso di queste sostanze, è stato

proposto di combinare OE opportunamente selezionati. Sono state determinate le Concentrazioni Minime Inibenti (MIC), mediante microdiluzione con lettura a 600 nm, degli OE di *Thymra capitata* (L.) Cav. (TOE), *Rosmarinus officinalis* (ROE) e *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (OOE) usati individualmente e combinati attraverso il metodo *checkerboard*, nei confronti di tre microrganismi di interesse zoonosico: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ed *Escherichia coli*. Nelle prove in *checkerboard* è stato determinato l'effetto antimicrobico combinato mediante Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) come segue: sinergia (FICI \leq 1), antagonismo (FICI $>$ 2), commutazione (FICI=1) o indifferenza (1 $>$ FICI \geq 2). Per quanto riguarda gli OE in singolo, è stata osservata una maggiore efficacia di OOE e di TOE (MIC di 2.5 μ l ml $^{-1}$ per *L. monocytogenes* e 1.25 μ l ml $^{-1}$ per *S. aureus* ed *E. coli*). Al contrario, ROE si è rivelato inefficace nell'inibizione di tutti i microrganismi alla massima concentrazione saggiata (20 μ l ml $^{-1}$) e in alcuni casi ha persino stimolato la crescita microbica. Sono state quindi valutate le MIC della combinazioni ROE/TOE e ROE/OOE. Nel primo caso, è stata osservata inibizione a concentrazioni di 0.31 e 2.5 μ l ml $^{-1}$ rispettivamente per tutte le specie. Nel secondo caso, le MIC sono risultate pari rispettivamente a 0.31 e 5 μ l ml $^{-1}$ nel caso di *L. monocytogenes* e di 0.31 e 2.5 μ l ml $^{-1}$ per *S. aureus* ed *E. coli*. Dunque, ROE, inefficace da solo, usato in combinazione ha consentito di ridurre le dose dell'altro OE in tutti i trattamenti. Inoltre, la determinazione del FICI ha rivelato un effetto commutativo nel trattamento ROE/TOE su *L. monocytogenes* e *S. aureus*, e nel trattamento ROE/OOE su *S. aureus*. Infine, dalle curve di crescita è stato possibile osservare la totale inibizione nei confronti di *L. monocytogenes* e *E. coli* in presenza di ROE/TOE e ROE/OOE. Tuttavia, in *S. aureus* la combinazione degli OE ha causato soltanto un'estensione della fase lag. I dati riportati in questo studio indicano la possibilità di ottenere un effetto antimicrobico a dose ridotta verso microrganismi di interesse zoonosico, attraverso combinazione di OE. Il futuro sviluppo di questa ricerca prevede lo studio in sistema reale e la valutazione di eventuali rilievi di natura tossicologica.

P36

VALIDAZIONE DI UN METODO ANALITICO DI CONFERMA IN GC/MS/MS PER LA DETERMINAZIONE DI PESTICIDI IN CAMPIONI DI UOVA

V. Nardelli, F. Casamassima, A. Calitri, V. D'Amico, I. Della Rovere, M. Ingegno, M. Iammarino

Istituto zooprofilattico sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italy

Le uova sono un alimento importante per la dieta umana, nonché uno dei più consumati. Tuttavia, alcune problematiche relative alla sicurezza alimentare di questi prodotti rendono necessarie azioni di controllo da parte del SSN. In particolare, sono considerati particolarmente pericolosi i residui di pesticidi, tanto che le uova rientrano nelle categorie di alimenti oggetto di controllo ufficiale nell'ambito del Piano Nazionale Residui e del Piano Fitosanitari. Oggetto di questo studio è la validazione di un metodo analitico di conferma per la determinazione di 85 pesticidi (organofosforati, organoclorurati, carbammati, piretroidi e altre classi di pesticidi) in campioni di uova, mediante GC/MS/MS. La metodica di estrazione con acetonitrile e di purificazione mediante SPE dispersiva con metodo modulare QuEChERS fa riferimento alla Norma UNI EN 15662:2018. Il metodo è stato validato impiegando un gas cromatografo Trace 1310 Thermofisher cor-

redato di Colonna Restek Rxi-5ms (30 m x 0,25 mmID x 0,25 m), rivelatore di massa triplo quadrupolo TSQ 8000 Evo Thermofisher, sistema di iniezione con autocampionatore TriPlus RSH Thermofisher e software elaborazione dati TraceFinder®. Sono stati valutati i parametri di validazione per ogni singolo analita, in accordo con quanto riportato nel documento SANTE 12682/2019. Per ogni analita sono stati selezionati uno ione precursore e almeno 2 ioni figli, in modo da ottenere un numero corretto di punti di identificazione. Le intensità relative degli ioni diagnostici sono state identificate mediante il confronto degli spettri di soluzioni standard di analita, verificando il rispetto delle tolleranze massime consentite dalla Decisione No. 657/2002/CE e dal documento SANTE 26812/2019 per intensità di ioni relative relativamente alle tecniche GC-MS/MS. Le prove di linearità sono state effettuate approntando curva di calibrazione ottenute iniettando tre repliche di 5 soluzioni a diversa concentrazione: 0.0025-0.010-0.0250-0.050-0.100 mg/L in matrice, per ogni pesticida, ed è stato calcolato il coefficiente di determinazione (R²). Tutti i valori sono risultati > 0.991. Le prove di recupero sono state eseguite fortificando i bianchi-campione di uova al livello di 0.010 mg/L e quantificando su di una retta di calibrazione in matrice (6 ripetizioni). I valori di recupero medio percentuale ottenuti dalle prove di accuratezza sono stati confrontati con quelli riportati nel Documento SANTE 12682/2019 (nel range 65.8% - 123.3%), così come quelli di precisione, valutati in termini di scarto di ripetibilità (< 0.001) e CV% (< 15.07%). Infine è stata calcolata l'incertezza di misura al livello di additivazione di 0.010 mg/L, prendendo in considerazione quali fattori di incertezza in ingresso la pesata, la ripetibilità al livello di interesse, il recupero, il materiale di riferimento e la taratura strumentale (Tabella 1). I parametri analizzati in fase di validazione (linearità, precisione, recupero, LOD e LOQ e incertezza di misura) risultano tutti in accordo con quanto indicato nel metodo normato e nei principali regolamenti di riferimento. Il metodo analitico validato in questo studio si è dunque dimostrato idoneo allo scopo e può essere adottato per l'indagine sulla presenza di pesticidi in campioni di uova, così come richiesto dai piani di controllo ufficiali.

La partecipazione al Congresso AIVI 2022 è stata possibile grazie al Ministero della Salute che ha finanziato il Progetto di Ricerca IZS PB 08/20 RC.

Tabella 1.

Principali parametri di validazione del metodo

Classe	Coeff. Di determinazione	Scarto tipo di ripetibilità (n=6)	Deviazione standard relativa di ripetibilità	Recupero % (n=6)	Scarto tipo del recupero	LOD (mg kg ⁻¹)	LOQ (mg kg ⁻¹)
Organoclorurati	0.995 - 0.999	0.00011 - 0.00111	2.39 - 14.86	85.62 ^a - 114.67	2.96 - 11.09	0.0001 - 0.0009	0.0002 - 0.017
Organofosforati	0.996 - 0.999	0.00003 - 0.00112	2.84 - 15.07	74.67 - 123.33 ^a	2.79 - 11.26	0.001 - 0.007	0.002 - 0.022
Carbammati	0.991 - 0.999	0.00057 - 0.00066	5.26 - 6.78	97.67 - 108.67	5.72 - 5.62	0.004 - 0.009	0.013 - 0.027
Piretroidi	0.998 - 0.999	0.00024 - 0.00092	2.65 - 9.56	82.60 - 99.00	2.44 - 9.22	0.001 - 0.004	0.002 - 0.013
Altri pesticidi	0.993 - 0.999	0.00002 - 0.00080	5.63 - 9.66	85.17 - 112.33	3.19 - 8.45	0.000 - 0.009	0.001 - 0.024

^a Valori di recupero medio non compresi nell'intervallo 70-120% sono stati osservati in funzione del CV% \leq 20%, come riportato nel documento SANTE 12682/2019

P37

LA RISTORAZIONE PUBBLICA NELLA PENISOLA SORRENTINA AI TEMPI DELLA PANDEMIA COVID-19

E. Tufarelli¹, F. Cacace², D. Mollica³

¹AUSL Modena servizio IAOA, Modena; ²Veterinario lib. prof. spec. IAOA, Sorrento (NA); ³ASL Napoli 3 sud servizio IAOA, Penisola sorrentina, Italy

Il Covid-19 ha scavato un solco profondo nell'economia italiana e mondiale. Tra i settori che ne hanno maggiormente risentito spicca quello della ristorazione che ha dovuto mettere in atto specifiche procedure per il contenimento della pandemia, tra cui il distanziamento sociale, la riduzione dei coperti, l'utilizzo dei dispositivi di protezione

individuale (dpi), la costante sanificazione degli ambienti comuni e delle mani, la più frequente manutenzione degli impianti di ventilazione, il rilevamento della temperatura corporea, il registro dei clienti. Lo scopo dello studio pertanto è stato conoscere le procedure messe in atto dai ristoratori della Penisola Sorrentina per il contenimento della diffusione del virus, come queste sono state implementate e le problematiche riscontrate. Lo studio è stato suddiviso in due momenti, il primo basato sulle interviste costituite da 5 domande a risposta aperta somministrate ai ristoratori ed il secondo sulle ispezioni in sede di controllo ufficiale. I dati ottenuti sono stati elaborati attraverso una metodologia di analisi qualitativa che ha individuato le tematiche di maggiore risalto: criticità, punti di forza e proposte. Tra le criticità emerse troviamo la riduzione della capacità di spesa dei consumatori; il rapporto con i fornitori; i costi legati alle misure per il contenimento della pandemia, come i dpi e gli igienizzanti da mettere a disposizione dello staff e della clientela, le barriere in plexiglass e i dispositivi per il rilevamento della temperatura corporea; il sostegno economico ricevuto dal Governo ritenuto insufficiente; la gestione degli spazi; il coprifuoco; la difficoltà nella ricerca di personale per il gran numero di operatori della ristorazione che hanno dovuto reinventarsi in altri settori meno sacrificati e più stabili; la gestione della clientela che ha accettato con riluttanza le misure restrittive. Tra gli elementi positivi è emersa la riscoperta da parte dei ristoratori sorrentini dell'importanza di fare associazionismo e ne è dimostrazione l'Associazione Ristoratori Lubrense che ha avuto un ruolo chiave nella campagna di vaccinazioni aziendali, la prima in Italia nel settore della ristorazione. Altro dato positivo di grande orgoglio per il settore veterinario che si occupa di sicurezza alimentare è che la maggior parte dei ristoratori ha recepito non totalmente estranee le misure per il contenimento della diffusione del virus: in molti casi si è trattato di implementare procedure già previste nel piano di autocontrollo. A tali misure se ne sono aggiunte delle nuove, ma ormai anch'esse ben collaudate. Il 31 marzo 2022, si è concluso in Italia lo Stato di emergenza sanitaria, eppure il Covid-19 è ancora lontano dall'essere solo un ricordo e i prossimi mesi vedranno un allentamento graduale di queste misure. In una fase dunque così delicata, definita "post-Covid", la Penisola Sorrentina, territorio che vive di turismo internazionale, è in ripresa economica con il sold out delle strutture alberghiere e di ristorazione. Ciò è stato reso possibile proprio grazie al grande lavoro di implementazione delle misure di contenimento messe in atto nel settore della ristorazione pubblica della Penisola Sorrentina, e in particolare di quella alberghiera, il cui monitoraggio dei casi e gestione dei positivi attuati da Federalberghi in sinergia con la ASL territorialmente competente è oggi motivo di encomio da parte delle ambasciate straniere.

P38

QUALITÀ MICROBIOLOGICA E NUTRIZIONALE DEI PASTI CONSUMATI SUL LUOGO DI LAVORO: UN'INDAGINE IZSPLV

C. Ferraris¹, D.M. Bianchi¹, C. Maurella², W. Martelli², M. Fornasiero³, P.C. Durelli⁴, A. Pezzana⁴, L. Decastelli⁵

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, SS Allergeni e Nutrizione, Torino; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, SS Rischi Alimentari ed Epidemiologia degli Alimenti, Torino; ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, SS Controllo Alimenti, Torino; ⁴ASL Città di Torino, SC Nutrizione Clinica, Torino; ⁵Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, SC Sicurezza e Qualità degli Alimenti, Torino, Italy

Il presente lavoro riporta i risultati di due indagini svolte in collaborazione con i lavoratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta (IZSPLV) per valutare il grado di sicurezza microbiologica e il profilo nutrizionale dei pasti consumati sul luogo di lavoro. Attraverso l'invio di una mail collettiva con link ad un questionario creato *ad hoc* con Moduli Google i lavoratori dell'IZSPLV sono stati invitati, nel mese di novembre 2021, a rispondere in maniera anonima e volontaria alle indagini. Le risposte pervenute sono state organizzate ed analizzate con il software STATA 17.1. Il primo questionario ha raccolto informazioni sulla tipologia dei pasti preparati a casa o acquistati pronti e consumati sul luogo di lavoro e ha valutato il rischio microbiologico, in base a tempi e modi di conservazione e trasporto, dal domicilio fino al luogo di consumo. Ai diversi parametri indagati è stato assegnato un gradiente di rischio da 3 (rischio basso: trasporto a temperatura refrigerata, per meno di 30 minuti e conservazione in frigo) a 8 (rischio alto: trasporto a temperatura ambiente per più di 60 minuti e conservazione fuori frigo). Uno score inferiore a 5 indica basso rischio microbiologico. La seconda indagine ha fotografato le abitudini alimentari dei partecipanti in termini di composizione di macronutrienti del pasto e di rispetto dei principi di una corretta alimentazione. Per evitare fattori soggettivi, alle domande sono state associate immagini di porzioni di alimenti derivate dall'"Atlante fotografico delle porzioni degli alimenti per adulti" dell'Istituto Scotti Bassani. Tra tutte le risposte pervenute, 15 pasti sono stati scelti in modo casuale per l'analisi bromatologica. Complessivamente sono pervenute 484 risposte: 274 per l'indagine sul rischio microbiologico e 210 relative alla qualità del pasto. In merito alla valutazione del rischio microbiologico il 37% degli alimenti ha ottenuto uno score di rischio elevato: 420 alimenti hanno ottenuto lo score 6, 77 alimenti lo score 7 e 35 alimenti lo score 8. Gli alimenti che hanno ottenuto lo score più alto sono rappresentati da preparazioni casalinghe cotte da consumare calde, preparazioni casalinghe fredde e prodotti di gastronomia. Dei 15 pasti scelti per l'analisi della qualità del pasto, 3 sono stati acquistati in esercizi di ristorazione collettiva e la composizione bromatologica media è risultata la seguente: 50% carboidrati complessi, 34% lipidi e 16% proteine. L'apporto di fibre è risultato inferiore all'apporto giornaliero consigliato (30 gr/gg). La media di acqua bevuta è di 1,5 L/gg. Per quanto riguarda i dati relativi alla sicurezza alimentare il 63% degli alimenti consumati sul posto di lavoro ha ottenuto uno score di rischio basso; tuttavia, alcune preparazioni casalinghe cotte, per le modalità di trasporto e conservazione, potrebbero rappresentare un rischio per *Bacillus cereus* e per *Clostridium perfringens*. La composizione del pasto è risultata bilanciata e in linea con quella proposta dal "Piatto Sano" (Harvard T.H. Chan School of Public Health) ad eccezione del contenuto di fibre, ed è allineata con la ripartizione dei nutrienti suggerita dalla Dieta Mediterranea (45-60% di carboidrati complessi, 20-35% di lipidi e 15% di proteine). Il personale dell'IZSPLV si è dimostrato collaborativo e disponibile a rispondere alle indagini proposte. Progetto finanziato dal Ministero della Salute IZSPLV03/18RC.

P39

CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* ISOLATI DA MATRICI ALIMENTARI E DA FONTI UMANE

A. Costa¹, A. Gattuso², A. Giammanco³, M. Torresi⁴, V. Alio¹, G. Butera¹, T. Fasciana³, A. Castello¹, C. Cardamone¹, F. Pomilio⁴

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo; ²Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione, Sanità Veterinaria, Istituto superiore di

sanità, Romay; ³Pro.Mi.Se/Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico P.Giaccone, Palermo; ⁴LNR per listeria monocytogenes, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Abruzzo e Molise, Teramo, Italy

Scopo del lavoro è stato la caratterizzazione molecolare di ceppi di *L. monocytogenes* (*L.m.*) isolati da alimenti e dall'uomo nel triennio 2019-2021. Un totale di 67 ceppi di *L.m.* sono stati isolati (norma UNI EN ISO 11290-1:2017) presso i laboratori di Microbiologia degli alimenti dell'IZS Palermo da diverse matrici alimentari con prevalenza di alimenti pronti quali prodotti lattiero-caseari, a base di carne, ittici, vegetali, prelevati nell'ambito dei campionamenti dei Servizi Veterinari delle ASP. Gli isolati batterici sono stati conservati a -20°C in Microbank ed in seguito inviati al LNR di Teramo per la determinazione del sierogruppo (PCR-Multiplex) e successiva indagine molecolare (MLST e Whole Genome Sequencing -WGS). Il sequenziamento è stato effettuato su piattaforma NextSeq 500 Illumina e l'analisi dei dati eseguita su una piattaforma bioinformatica e di raccolta dati del LNR *L.m.*, denominata GenPat. Presso i laboratori ospedalieri di Palermo (Ospedale Civico, Ospedali Riuniti Villa Sofia-Cervello e Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico, quest'ultimo anche Laboratorio di Riferimento Regionale per la listeriosi) sono stati isolati n. 39 ceppi clinici di *L.m.* I ceppi, insieme alle schede per la raccolta dei dati epidemiologici, sono stati inviati all'Istituto Superiore di Sanità (ISS-Operational Contact Point microbiologico per *L.m.*) per la caratterizzazione molecolare mediante WGS. Il sequenziamento è stato effettuato su una piattaforma IonTorrent S5 e l'analisi è stata eseguita automaticamente su una piattaforma bioinformatica e di raccolta dati, denominata IRIDA-ARIES. I risultati sulla caratterizzazione molecolare dei ceppi

isolati dagli alimenti hanno mostrato una prevalenza del sierogruppo IVb (70%), seguito dal IIa (24%), dal IIb (4.5%) e dal IIc (1.5%). Il 46.3% dei ceppi, tutti appartenenti al sierogruppo IVb, sono stati isolati da mozzarella e formaggio a pasta filata, prelevati presso una stessa azienda produttrice, durante controlli ufficiali, nel periodo agosto-settembre 2020, a seguito di positività rilevata in autocontrollo. I risultati del sequenziamento effettuato dal LNR hanno evidenziato l'esistenza di cluster di ceppi appartenenti al Clonal Complex (CC) 2, CC199 e CC1. In particolare, tutti i ceppi isolati nello stesso caseificio, sia nel periodo considerato che in un successivo campionamento a gennaio 2022, appartenevano al CC2 e Sequence Type 2 (ST2). Riguardo i ceppi clinici, l'analisi filogenetica dei genomi dei 39 isolati di *L.m.* ha consentito l'identificazione di un Cluster_90 composto da 25 ceppi dei quali 6 isolati nel 2019, 16 nel 2020 e 1 nel 2021. I 25 ceppi sono risultati appartenere al sierogruppo IVb, ST2 e CC2 presentando tra loro una differenza allelica al core genome MLST compresa tra 0 e 12. Da sottolineare la presenza di 8 ceppi, isolati tra ottobre 2019 e agosto 2021, associati a casi materno neonatali. Le sequenze genomiche dei 39 ceppi clinici di *L.m.* sono state confrontate con le sequenze depositate nel database IRIDA-ARIES. Dall'analisi è emerso che al Cluster_90, ST2 appartenevano anche 3 ceppi isolati in Lombardia (2 nel 2019, 1 nel 2020), 2 in Piemonte, 1 nel Lazio, 1 in Toscana nel 2020 e 2 ceppi isolati in Sicilia (1 nel 2019 da Siracusa e 1 nel 2020 dalla provincia di Palermo). Il presente studio ha permesso di avviare la costruzione di una rete integrata medico/veterinaria tra laboratori per potenziare il sistema di sorveglianza della listeriosi nella regione Sicilia.

Indice degli autori

Accettulli, R.	28	Cadavez, V.	2	Cutarelli, A.	24
Aceto, A.	15	Caizzone, C.	41	D'Alessio, N.	34
Achemchem, F.	2	Calasso, M.	39	D'Amico, V.	25,45
Adriano, D.	31,32	Caligiani, A.	27	D'Amore, T.	28
Agnetti, F.	12,14	Calitri, A.	25,45	D'Antini, P.	21
Alborali, G.L.	27,30	Campanelli, L.	37	D'Onofrio, F.	38,42
Alduina, R.	24	Campaniello, M.	40	D'Ovidio, V.	8
Alesso, E.	41	Capuano, F.	9,14,15,36,43	Dalipi, R.	28
Alfano, C.	30	Capucchio, M.T.	7	Dall'Ara, S.	15
Alio, V.	7,46	Capuozzo, F.	10	Dambrosio, A.	10
Allegretto, C.	31,37	Cardamone, C.	7,24,46	Daminelli, P.	19
Aloia, R.	36	Cardazzo, B.	11	Danesi, L.	19
Altissimi, C.	23	Carella, E.	31	De Cesare, A.	2,4
Ambrosio, R.L.	14,17	Carosielli, L.	20	De Lella, A.	24
Anastasio, A.	17,20,34	Carta, N.	6	De Luca, A.	8
Annunziata, L.	36	Carullo, M.R.	15	De Luca, S.	27,30
Antoci, S.	27,29,37	Casamassima, F.	25,45	De Marchis, M.L.	29
Anzalone, A.	24,28	Castaldo, E.	34	De Santis, E.P.L.	5,6
Arioli, F.	37	Castellano, S.	9	De Santis, P.	29
Arletti, E.	9,43	Castello, A.	7,24,46	De Stefano, M.	20
Armani, A.	15	Castrica, M.	34,44	Decastelli, L.	31,32,40,46
Asara, G.	5	Cau, S.	8	Della Rotonda, M.	14
Avena, C.	32	Cavallaro, F.	43	Della Rovere, I.	25,45
Bacci, C.	38	Ceci, E.	10	Demartini, E.	2
Baiguera, C.	19	Celano, G.	39	Di Cesare, F.	37
Balestrieri, A.	9,15	Celano, G.V.	39	Di Ciccio, P.A.	7,41
Balzan, S.	11,35	Cenci-Goga, B.T.	35	Di Concilio, D.	36
Balzaretti, C.M.	34,44	Centi Pizzutilli, S.	37	Di Egidio, V.	31
Bargelloni, L.	11	Cerino, P.	36	Di Francesco, C.E.	3
Berardi, G.	16,28	Ceruso, M.	17	Di Maro, O.	9,36,43
Bernardi, C.	4,39	Chiesa, F.	7,34,41	Di Pace, E.	13
Bervin, R.	1	Chiesa, L.M.	19,37	Di Paolo, M.	20
Biancardi, A.	19	Ciampana, A.	9	Di Salvo, R.	6
Bianchi, D.M.	31,32,40,46	Ciardelli, L.	32	Di Serafino, G.	27,37
Biglia, C.	1	Ciccarelli, C.	9	Di Stefano, L.	37
Bilei, S.	29	Ciccarelli, E.	9	Di Taranto, A.	16
Biondi, L.	24,28	Ciciliano, F.	23	Di Trani, V.	9
Biziato, G.	11	Cioffi, B.	43	Dipinto, A.	10
Bizzarri, M.	9	Civera, T.	1,41	Dongo, D.	10
Blasi, F.	35	Cocca, M.	13	Durelli, P.C.	46
Bogdanova, T.	29	Coisson, J.D.	32	Escribá, P.V.	17
Bonardi, S.	38	Colavita, G.	13	Esposito, A.	24,28,43
Bonerba, E.	30	Colombino, E.	7	Fabre, M.P.	27
Bonifacino, G.	1	Coluccino, D.	33	Faggio, G.	34
Bordese, F.	7	Cometa, S.	10	Farneti, S.	23
Bossù, T.	29	Conter, M.	30	Fasciana, T.	46
Bozzo, G.	30	Corda, L.	8	Fasolato, L.	11,35
Braghin, S.	7	Cordovana, M.	32	Ferraris, C.	46
Branciarì, R.	12,14,23	Corradini, A.	2	Ferraro, C.	24
Brezzo, E.	32	Corradini, C.	29	Ferri, G.	3,8
Bruatto, G.	1	Corti, I.	14	Ferrocino, I.	32
Brusa, F.	41	Coruzzi, E.	1	Festino, A.R.	3
Buccioni, F.	18,44	Cosenza, G.	28	Fioretti, A.	34
Budelli, L.	34	Cossignani, L.	35	Fioretti, M.	4
Butera, G.	7,24,46	Costa, A.	7,24,46	Fioriello, L.	7
Cabras, D.	5	Costantino, G.	39	Florio, M.	38
Caburlotto, G.	11	Crippa, C.	2	Floris, I.	40
Cacace, F.	45	Cristiano, D.	9	Fontana, F.	35
		Cuccu, M.	6	Fornasiero, M.	46
		Cuomo, M.C.	36	Franceschini, R.	12,14
		Currò, S.	11,35	Frizziero, S.	32

Fulgione, A.	24,28	Luciani, M.	38,42	Palombo, P.	12
Gagliardi, M.	22	Maggio, F.	18,44	Paludi, D.	3,15
Galli, F.	15	Malloggi, C.	15	Pandiscia, A.	30
Galuppini, E.	38	Mancusi, A.	15,36	Panebianco, A.	6
Gambi, L.	2,19	Manfreda, G.	2	Panebianco, F.	7,41
Garofalo, F.	24	Manfrin, A.	11	Panserì, S.	19,26,37
Garrone, A.	41	Mangeri, L.	38	Pantano, L.	24
Gasperetti, L.	15	Marconi, F.	22,43	Paparella, A.	18,42,44
Gattuso, A.	46	Marconi, P.	15	Parisciani, G.	27
Gaudino, M.	33	Marello, G.	40	Parisi, A.	2
Gaviglio, A.	2	Marino, A.	33	Pasquali, F.	2
Gazzonis, A.	34	Marrone, R.	17,20	Paterlini, F.	19
Ghidini, S.	12,30	Martelli, G.	1	Patočka, J.	12
Giacometti, F.	4	Martelli, W.	46	Pavlovic, R.	19
Giammanco, A.	46	Marti, E.	1	Pedonese, F.	22,43
Giarratana, F.	6,25	Martinato, I.	35	Pellei, D.	3
Giliberti, A.	33	Martino, G.	38	Pepe, T.	17
Gilli, M.	1	Martucci, F.	40	Persichitti, S.	38
Giobbio, E.	7	Mastropietro, S.	37	Peruzy, M.F.	9,15
Giosia, L.	42	Maurella, C.	46	Pesce, A.	33
Girardi, S.	36	Maurichi, M.	5	Pezzana, A.	46
Girola, R.	32	Mazzocchi, M.	42	Piccinini, A.	8
Giuffrida, A.	25	Mekonnen, Y.T.	4	Piccioni, .	29
Giusti, A.	15	Melillo, R.	8	Piccioni, R.	27,37
Gonzales-Barron, U.	2	Meloni, D.	8	Pierrì, A.	36
Griffoni, F.	12	Meloni, M.P.	5,6	Pierrì, B.	36
Grispoldi, L.	35	Mendolicchio, .	1	Piersanti, A.	12
Guadagno, F.	30	Mentana, A.	40	Piga, C.	6
Guarnieri, C.	20	Mercogiano, R.	10,13	Piraino, C.	7
Guasco, C.	41	Micheli, M.R.	20	Piras, F.	5,6
Guidi, A.	22	Miedico, O.	28	Piras, G.	8
Husáková, L.	12	Migliore, G.	29	Piredda, R.	10
Iametti, S.	2	Miraglia, D.	34	Pitti, M.	32
Iammarino, M.	16,25,28,40,45	Mogliotti, P.	41	Pizzolante, A.	36
Ianieri, A.	12,30	Molina-Hernandez, J.B.	15	Polizzi, G.	20
Iannetti, L.	42	Mollica, D.	45	Pollini, L.	35
Ianni, A.	38	Montone, A.M.I.	24	Pomilio, F.	38,42,46
Ianni, F.	35	Mosconi, G.	19,37	Possidente, R.	41
Indio, V.	4	Mottola, A.	10	Presti, N.	21,23
Ingegno, M.	25,45	Mudadu, A.G.	8	Primavilla, S.	23
Ioele, S.	15	Murru, N.	15	Proroga, Y.T.R.	9,14,15,36,43
Iriti, M.	26	Muscarella, M.	21	Pulze, S.	21,23
La Rosa, G.	36	Muscariello, T.	17	Purgatorio, C.	18,44
La Tela, I.	15	Nalbone, L.	25	Quaglia, N.C.	10
Lai, R.	5	Nana, G.	35	Rahman, M.S.	11
Lauteri, C.	3	Nannoni, E.	1	Raimo, G.	13
Leinoudi, M.	9	Nappi, R.	24,41	Ranucci, D.	12,14,23
Lelli Mami, F.	19	Nardelli, V.	25,40,45	Restaino, G.	33
Leoni, V.	26	Nava, D.	24,28	Restucci, B.	34
Leprini, E.	34	Nilvetti, M.	33	Riccardi, F.	2
Liuzzo, G.	1	Nobile, M.	19,37	Righi, F.	38
Lo Cascio, G.	24	Novelli, E.	11,35	Rizzi, G.	16
Lo Magro, S.	21	Nucera, D.	1	Rizzuto, M.L.	7
Locatelli, V.	39	Nuvoloni, R.	22,43	Robetto, S.	31
Lolli, V.	27	Oliveri, G.	7,24	Roila, R.	12,14,23
Lopez Chavez, C.	15,18,44	Orusa, R.	31	Romano, A.	40
Lorenzini, L.	4	Osella, E.	1	Romeo, C.	30
Lorenzoni, G.	8	Pacifico, L.	34	Ronconi, D.	8
Lorusso, P.	30	Paesanti, F.	11	Rosamilia, A.	20
Lovari, S.	29	Palmieri, G.	17	Rossi, C.	18,44
Lucchi, A.	2	Palomba, E.	16	Rossi, L.	7

Rubinetti, F.	1	Spanu, V.	6	Valiani, A.	12,14,23
Rubiola, S.	7,34,41	Startari, E.	6	Vallone, C.	17
Russini, V.	29	Stassi, E.	1	Vallone, L.	26
Rutigliano, B.	41	Stefano, F.	44	Vannuccini, A.	31
Sabatelli, S.	19	Stella, S.	4,39	Varcasia, B.M.	29
Salza, S.	8	Stramenga, A.	12	Varcasia, G.B.	17
Sangiorgi, E.	28	Suffredini, E.	36	Varrà, M.O.	12,27,30
Sanna, R.	5	Summa, S.	21	Vassallo, L.	36
Santonicola, S.	13	Tafuro, M.	36	Veneziano, V.	34
Sardi, L.	1	Tangorre, S.	39	Venuti, I.	14,17
Sartoni, M.	22	Tantillo, M.G.	30	Vergara, A.	3,8,21,23
Savini, F.	4	Tardella, M.	27	Vietina, M.	9,43
Scali, F.	27,30	Tavoloni, T.	12	Viganò, R.	2
Scarano, C.	5,6	Tedde, T.	8	Villani, C.	27,29
Scarcelli, S.	34	Terio, V.	30	Virgilio, S.	8
Schiopu, A.	25	Tinacci, L.	15	Visciano, P.	36,38,42
Schirone, M.	36,38,42	Tirloni, E.	4,39	Visentin, G.	1
Scortichini, G.	36,37	Tittarelli, M.	38,42	Vita, V.	16
Scorzetti, G.	3,42	Tomaiuolo, M.	25,40	Vitale, N.	41
Scotti, L.	15	Tommasello, F.	4	Vitalini, S.	26
Semeraro, A.M.	9	Tontarelli, F.	38	Vodret, B.	8
Serio, A.	18,44	Torracca, B.	22	Volgare, M.	13
Serraino, A.	4	Torresi, M.	46	Vuoso, V.	14,17
Sgadari, M.F.	34	Trabunella, E.	41	Zanardi, E.	12,27,30
Siddi, G.	5,6	Traversa, A.	1	Zappalà, G.	22
Sigala, L.	39	Troja, F.	4	Zianni, R.	40
Signorelli, D.	36	Tufarelli, E.	45	Ziino, G.	6,25
Simbula, F.	5	Uboldi, L.	19	Zuccon, F.	32
Smoglica, C.	3	Usai, K.	8	Zuorro, A.	26
Sorrentino, G.	25	Valero, A.	2		

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 2022.