

*Guida pratica per la sicurezza microbiologica in impianti produttori di
Prosciutto di Parma che esportano verso paesi a “tolleranza zero”*

Hazard analysis: valutazione dei pericoli microbiologici

Giuseppe Merialdi DVM, PhD
IZSLER-Bologna



Analisi dei pericoli: 1° principio del Sistema HACCP

- Elencare i pericoli potenziali che possono verificarsi
- Valutare la probabilità che essi si manifestino definendo quelli da considerare
- Elencare le misure preventive

Elenco pericoli microbiologici potenziali

- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella*
- *Clostridium botulinum*
- *Staphylococcus aureus*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Campylobacter jejuni*
- *Bacillus cereus*
- *Clostridium perfringens*
- *Escherichia coli* STEC (VTEC)

Pericoli microbiologi potenziali

Stadio dell'analisi dei pericoli		Tipo di prodotto: Prosciutto di Parma				
Stadio 1 Identificazione dei pericoli	Identificare i potenziali pericoli associati al prodotto	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Muffe tossinogene
Stadio 2 Valutazione dei pericoli	Valutare la severità delle conseguenze sulla salute del consumatore se il potenziale pericolo non è propriamente controllato	Alta (pericolo di vita)	Moderata (grave o cronica) Alta (pericolo di vita) per <i>Salmonella typhi</i>	Bassa (modesta o lieve)	Moderata (grave o cronica)	Moderata (grave o cronica)
	Determinare la probabilità di manifestarsi del potenziale pericolo se esso non è propriamente controllato	Media, sulla base dei dati reperibili in letteratura	Media, sulla base dei dati reperibili in letteratura	Alta, sulla base dei dati reperibili in letteratura	Trascurabile, sulla base dei dati reperibili in letteratura	Bassa, sulla base dei dati reperibili in letteratura
	Usando le informazioni di cui sopra, determinare se questo potenziale pericolo deve essere preso in considerazione nel piano HACCP	Il grado di rischio risulta maggiore e quindi il pericolo deve essere gestito all'interno del piano HACCP.	Il grado di rischio risulta maggiore e quindi il pericolo deve essere gestito all'interno del piano HACCP.	Il grado di rischio risulta minore ma, considerata l'alta probabilità di comparsa, il pericolo deve essere gestito all'interno del piano HACCP.	Il grado di rischio risulta non significativo e quindi il pericolo non necessita di essere gestito all'interno del piano HACCP.	Il grado di rischio risulta minore e quindi il pericolo non necessita di essere gestito all'interno del piano HACCP.

Pericoli microbiologici potenziali

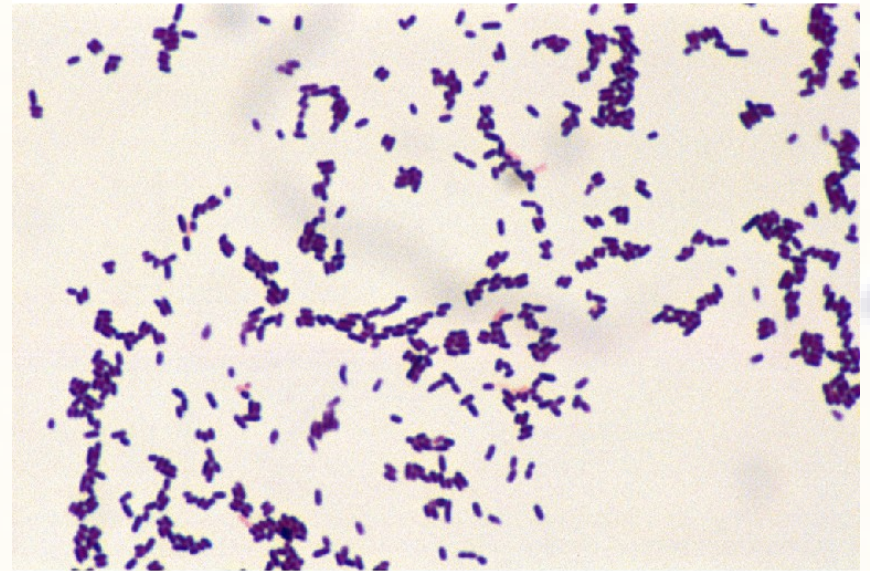
Stadio dell'analisi dei pericoli		Tipo di prodotto: Prosciutto di Parma				
Stadio 1 Identificazione dei pericoli	Identificare i potenziali pericoli associati al prodotto	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Escherichia coli</i> O ₁₅₇ :H ₇
Stadio 2 Valutazione dei pericoli	Valutare la severità delle conseguenze sulla salute del consumatore se il potenziale pericolo non è propriamente controllato	Bassa (modesta o lieve)	Moderata (grave o cronica)	Alta (pericolo di vita)	Bassa (modesta o lieve)	Alta (pericolo di vita)
	Determinare la probabilità di manifestarsi del potenziale pericolo se esso non è propriamente controllato	Trascurabile, sulla base dei dati reperibili in letteratura	Trascurabile, sulla base dei dati reperibili in letteratura	Bassa, sulla base dei dati reperibili in letteratura	Trascurabile, sulla base dei dati reperibili in letteratura	Trascurabile, sulla base dei dati reperibili in letteratura
	Usando le informazioni di cui sopra, determinare se questo potenziale pericolo deve essere preso in considerazione nel piano HACCP	Il grado di rischio risulta non significativo e quindi il pericolo non necessita di essere gestito all'interno del piano HACCP.	Il grado di rischio risulta non significativo e quindi il pericolo non necessita di essere gestito all'interno del piano HACCP.	Il grado di rischio risulta minore ma, considerata l'alta gravità, il pericolo deve essere gestito all'interno del piano HACCP.	Il grado di rischio risulta non significativo e quindi il pericolo non necessita di essere gestito all'interno del piano HACCP.	Il grado di rischio risulta non significativo e quindi il pericolo non necessita di essere gestito all'interno del piano HACCP.

Pericoli microbiologici significativi in ottica export

- *Listeria monocytogenes* (presenza del microrganismo)
- *Salmonella* (presenza del microrganismo)
- *Clostridium botulinum* (tossina botulinica)
- *Staphylococcus aureus* enterotossico (tossina enterotossica)

Listeria monocytogenes

- Bacilli gram positivi
- Parassiti intracellulari facoltativi



Biologia

- *Listeria monocytogenes* sierotipi

- 1/2a, 1/2b, 1/2c

- 3a, 3b, 3c

- 4a, 4b, 4c, 4d, 4e

- 7

98% dei casi clinici umani

Ecologia

- Ampiamente diffusi
 - Ambiente, vegetali
 - Animali
 - Uomo
 - Alimenti

Biologia

- Temperatura ottimale crescita 30°C
 - Range vastissimo (-0,15°C a 45°C)
- $a_w > 0,92$
- NaCl 10%
- pH 4,3-9,4

Epidemiologia:ambiente

- Ambienti di lavoro industrie alimentari
 - Capacità di aderire alle superfici
 - Crescita in biofilms
 - Costituzione di nicchie ambientali
 - Sierotipi 1/2a, 1/2b e 1/2c maggior adattamento all'industria delle carni

Epidemiologia: alimenti

- Carne suina:
 - Tonsille (0-61%)
 - Lingua (fino a 14%)
 - Carni macinate (45-50%)
 - Prevalenti sierotipi 1/2a, 1/2b, 1/2c
 - Presenza di sierotipo 4b
 - Vari casi epidemici: Lingua, hot dogs

Listeria monocytogenes in carni fresche

SPECIE	N. campioni	N. positivi (%)	ufc/g 1-10	ufc/g 10-100	ufc/g 100-10000
Avicoli	176	34 (19,32)	85,29%	14,71%	0,00%
Bovino	168	14 (8,33)	100%	0,00%	0,00%
Suino	179	30 (16,76)	100%	0,00%	0,00%

Casadei L. et al (2004), Igiene Moderna 122,2; 71-86

SCIENTIFIC REPORT OF EFSA

Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates¹

European Food Safety Authority^{2, 3}

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

The EU prevalence of *L. monocytogenes*-contaminated meat products was 2.07 % (CI: 1.63 % - 2.64 %) (72 positive samples out of 3 470), at the end of shelf-life.

The proportion (and number) of meat products samples with a *L. monocytogenes* count exceeding the level of 100 cfu/g was 0.43 % (CI: 0.25 %-0.74 %) (15 samples) at the end of shelf-life.

Table 15: Categorical *L. monocytogenes* counts (cfu/g) present in packaged heat-treated meat product samples, at the end of shelf-life, in the EU,^(a) 2010-2011

	<i>L. monocytogenes</i> count (cfu/g)							Total
	< 10 ^(b)	10-39	40-100	> 100- 1 000	> 1 000- 10 000	> 10 000- 100 000	> 100 000	
Total No of samples	3 498	9	8	12	1	2	0	3 530
Proportion of samples (%)	99.1	0.3	0.2	0.3	0.03	0.1	0	
Proportion of samples among those with at least 10 cfu/g	-(^c)	28.1	25.0	37.5	3.1	6.3	0	

Stress responses

- Durante il suo percorso dall'ambiente all'ospite *L. monocytogenes* incontra numerosi ostacoli
- A tali ostacoli è in grado di rispondere con una serie di sofisticati meccanismi di adattamento

Stress responses

- Nell'ambiente
 - Temperatura
 - Scarsità di nutrimento
- Negli alimenti
 - Temperature (alte e basse)
 - Acidificazione
 - Disidratazione
 - Salagione
- Nell'ospite
 - pH gastrico
 - Elevata osmolarità intestinale
 - Sali biliare
 - Acidi deboli
 - Competizione trofica
 - Risposta immunitaria aspecifica

Alte temperature

- La temperatura elevata modifica la struttura delle proteine e determina instabilità di membrana e delle macromolecole interne (ribosomi, DNA, enzimi, etc)
- In risposta a questo *L. monocytogenes* è in grado di attivare la cosiddetta *heat shock response*

Acidità

- *L. monocytogenes* è neutrofila e deve mantenere inalterato il pH citoplasmatico
- Meccanismo di ATR (Acid Tolerance Response)
 - In seguito ad esposizione a una modica diminuzione dell'acidità il meccanismo viene attivato
 - In caso di brusca riduzione (normalmente letale) del pH il microrganismo è in grado di produrre ASPs (Acid shock proteins)

Pressione osmotica

- Aumenti della pressione osmotica ambientale possono essere dovuti a disidratazione e aumento della concentrazione di zucchero o sale
- In queste condizioni si verifica un istantaneo efflusso di acqua dal batterio verso l'esterno con perdita del turgore cellulare e alterazioni del metabolismo anche letali

Pressione osmotica

- In risposta ad una variazione della pressione osmotica *L. monocytogenes* risponde con:
 - Accumolo di soluti compatibili:
 - Piccole molecole organiche che non alterando la funzionalità cellulare sono in grado di trattenere l'acqua. Nel caso di *L. monocytogenes* sono reclutate dall'esterno (es. carnitina da tessuti animali)
 - Sintesi di osmotic stress proteins

La malattia

- La Listeriosi umana è caratterizzata da:
 - Elevato tasso di ospedalizzazione: circa 90%
 - Elevato tasso di mortalità (20-30%)

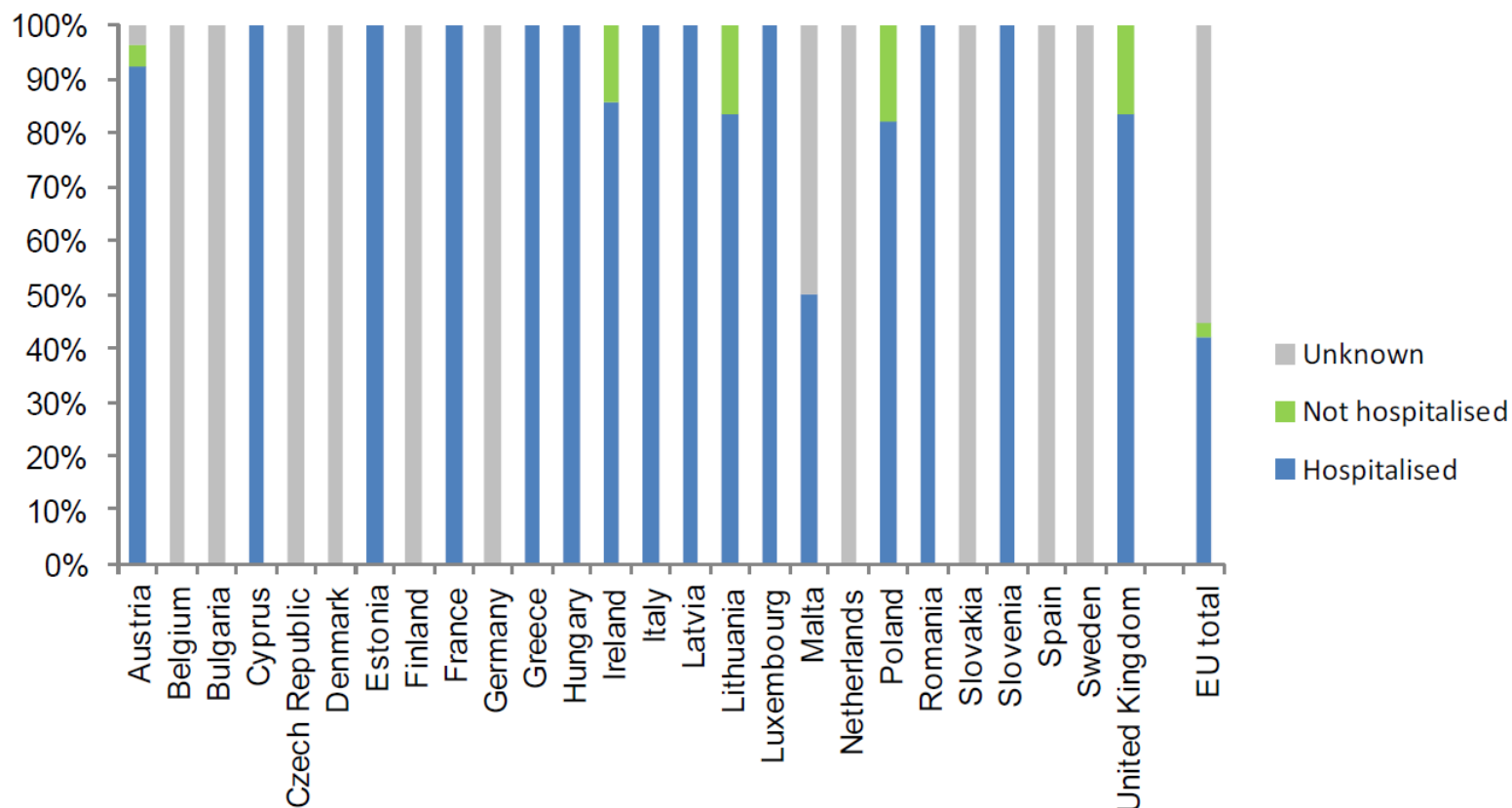
Table 14. Reported cases and notification rates per 100,000 of human listeriosis in the EU/EEA, 2009-2013

Country	2013					2012		2011		2010		2009	
	National Coverage ^(a)	Data Format ^(a)	Total Cases	Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates	
				Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate
Austria	Y	C	36	36	0.43	36	0.43	26	0.31	34	0.41	46	0.55
Belgium	Y	C	66	66	0.59	83	0.75	70	-	40	0.37	58	-
Bulgaria	Y	A	3	3	0.04	10	0.14	4	0.05	4	0.05	5	0.07
Croatia ^(b)	Y	A	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyprus	Y	C	1	1	0.12	1	0.12	2	0.24	1	0.12	0	0.00
Czech Republic	Y	C	36	36	0.34	32	0.31	35	0.33	26	0.25	32	0.31
Denmark	Y	C	51	51	0.91	50	0.90	49	0.88	62	1.12	97	1.76

A total of 191 deaths due to listeriosis were reported in 2013 in the EU. Out of the 19 MS reporting outcome, 14 reported one or more fatal cases, with France reporting the highest number, 64 cases. The EU case-fatality rate was 15.6 % among the 1,228 confirmed cases for which this information was reported (69.7 % of all confirmed cases).

Hungary	Y	C	48	48 0.49	13 0.13	11 0.11	20 0.20	16 0.16				
Ireland	Y	C	8	8 0.17	11 0.24	7 0.15	10 0.22	10 0.22				
Italy ^(c)	-	-	-	- -	36 -	129 0.22	157 0.27	109 0.19				
Latvia	Y	C	5	5 0.25	6 0.29	7 0.34	7 0.33	4 0.19				
Lithuania	Y	C	6	6 0.20	8 0.27	6 0.20	5 0.16	5 0.16				
Luxembourg	Y	C	2	2 0.37	2 0.38	2 0.39	0 0.00	3 0.61				
Malta	Y	C	1	1 0.24	1 0.24	2 0.48	1 0.24	0 0.00				
Netherlands	Y	C	72	72 0.43	73 0.44	87 0.52	72 0.43	44 0.27				
Poland	Y	C	58	58 0.15	54 0.14	62 0.16	59 0.16	32 0.08				
Portugal ^(d)	-	-	-	- -	- -	- -	- -	- -				
Romania	Y	C	9	9 0.05	11 0.06	1 0.01	6 0.03	6 0.03				
Slovakia	Y	C	18	16 0.30	11 0.20	31 0.58	5 0.09	10 0.19				
Slovenia	Y	C	16	16 0.78	7 0.34	5 0.24	11 0.54	6 0.30				
Spain ^(e)	N	C	140	140 1.00	109 0.93	91 0.78	129 1.11	121 1.05				
Sweden	Y	C	93	93 0.97	72 0.76	56 0.60	63 0.67	73 0.79				
United Kingdom	Y	C	192	192 0.30	183 0.29	164 0.26	176 0.28	235 0.38				
EU Total	-	-	1771	1763 0.44	1644 0.41	1515 0.33	1663 0.37	1675 0.37				
Iceland	Y	C	1	1 0.31	4 1.25	2 0.63	1 0.32	0 0.00				
Liechtenstein	-	-	-	- -	- -	- -	- -	- -				
Norway	Y	C	21	21 0.42	30 0.60	21 0.43	22 0.45	31 0.65				
Switzerland ^(f)	Y	C	64	64 0.80	39 0.49	47 0.60	67 0.86	41 0.53				

Figure LI2. Proportion of hospitalisation of reported confirmed cases of human listeriosis in the EU, 2011



Data on hospitalisation for listeriosis have been collected in the case-based reporting in TESSy for the last two years. Sixteen MSs provided this information for all or the majority of their cases, representing 43.7 % of all confirmed cases reported in the EU in 2011 (Figure LI2). On average, 93.6 % of the cases were hospitalised and, in 10 MSs, this proportion was 100 %. This is the highest hospitalisation of all zoonoses under EU surveillance and reflects the focus of surveillance on severe, systemic infections.

Forme cliniche

- Feto/materno – neonatale
 - Aborto nell'ultimo trimestre
 - Natimortalità
 - Nascita di neonati affetti da granulomatosi settica fatale
 - Sindrome simil influenzale nella madre nei 15 giorni precedenti
 - Listeriosi perinatale (rara) da 1 a 8 settimane dopo il parto (mortalità inferiore)

Forme cliniche

- Listeriosi nell'adulto:
 - 50-70% coinvolgimento del SNC
 - Meningoencefalite
 - Raramente ascessi cerebrali
 - Batteriemia
 - Possibile forma setticemica
 - Endocardite
 - Polmonite
 - Oftalmite
 - Forma gastro intestinale

Fattori che influenzano il decorso dell'infezione

- Dose infettante:
 - Non esiste una dose infettante minima
 - Tuttavia i dati di:
 - Numerazione della concentrazione negli alimenti causa di listeriosi
 - Dati di risk assessment
 - Dati da modelli animali
 - Evidenze epidemiologiche

Indicano che la dose infettante è generalmente alta ($>10^6$ ufc/g)

Fattori che influenzano il decorso dell'infezione

- Virulenza del ceppo
 - La maggior parte dei casi (50%) è sostenuto da ceppi del sierotipo 4b
 - All'interno del sierotipo 4b un ristretto gruppo di ceppi è responsabile dei focolai più gravi

Fattori che influenzano il decorso dell'infezione

- Stato immunitario dell'ospite
 - La maggior parte dei casi di Listeriosi negli adulti sono a carico di soggetti immunocompromessi (> 60 anni, malati cronici, trapiantati, AIDS, diabetici, lupus)
 - Le donne gravide presentano un fisiologico abbattimento delle difese immunitarie cellulo mediate

Fattori che influenzano il decorso dell'infezione

Soggetti Immunocompetenti

- Ingestione di $<10^5$ ufc
 - no malattia, risposta immunitaria cellulo mediata efficace, possibile piogranulomatosi subclinica
- Ingestione $> 10^6$ ufc
 - possibile forma gastroenterica entro 24 ore dal consumo

Salmonella

- Batterio gram negativo fam. *Enterobacteriaceae*
- Habitat intestinale
- Colonizza l'intestino di numerosissime specie animali senza manifestazioni cliniche o in modo paucisintomatico
- Rappresenta uno dei principali problemi di salute pubblica in ambito alimentare

Salmonella

- La specie di interesse per noi è:
Salmonella enterica subspecie enterica
- Al suo interno sono presenti oltre 2000 sierotipi es.
 - Salmonella Enteritidis
 - Salmonella Typhimurium
 - Salmonella Typhi
 - Salmonella Paratyphi

Table 2. Reported cases and notification rates per 100,000 of human salmonellosis in the EU/EEA, 2009–2013

Country	2013					2012		2011		2010		2009	
	National Coverage ^(a)	Data Format ^(a)	Total Cases	Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates	
				Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate
Austria	Y	C	1435	1404	16.6	1773	21.1	1432	17.0	2179	26.0	2775	33.2
Belgium ^(b)	N	C	2528	2528	-	3101	-	3177	-	3169	-	3113	-
Bulgaria	Y	A	812	766	10.5	839	11.5	924	12.5	1154	15.5	1247	16.7
Croatia ^(c)	Y	A	1254	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyprus	Y	C	79	79	9.1	90	10.4	110	13.1	136	16.6	134	16.8
Czech Republic	Y	C	9959	9790	93.1	10056	95.7	8499	81.0	8209	78.5	10480	100.5
Denmark	Y	C	1137	1137	20.3	1207	21.6	1170	21.0	1608	29.1	2130	38.6
Estonia	Y	C	186	183	13.9	249	18.8	375	28.2	381	28.6	261	19.5
Finland	Y	C	1986	1986	36.6	2199	40.7	2098	39.0	2421	45.2	2327	43.7
France	Y	C	8927	8927	13.6	8705	13.3	8685	13.4	7184	11.1	7153	11.1
Germany	Y	C	18986	18696	22.8	20493	25.1	23982	29.4	24833	30.4	31395	38.4
Greece	Y	C	417	414	3.7	404	3.6	471	4.2	297	2.7	403	3.6
Hungary	Y	C	5122	4953	50.2	5462	55.2	6169	62.8	5953	60.4	5873	59.5
Ireland	Y	C	326	326	7.1	309	6.7	311	6.8	349	7.7	335	7.4
Italy ^(d)	-	-	-	-	-	1453	-	4464	7.5	5305	9.0	5715	9.7
Latvia	Y	C	394	385	19.0	547	26.8	995	48.0	877	41.4	795	36.8
Lithuania	Y	C	1199	1199	40.4	1762	58.7	2294	75.2	1962	62.4	2063	64.8
Luxembourg	Y	C	120	120	22.3	136	25.9	125	24.4	211	42.0	162	32.8
Malta	Y	C	84	84	19.9	88	21.1	129	31.1	160	38.6	125	30.4
Netherlands ^(e)	N	C	979	979	9.1	2198	20.5	1284	12.0	1447	13.6	1204	11.4
Poland	Y	A	7577	7307	19.0	7952	20.6	8400	21.8	9257	24.3	8529	22.4
Portugal	Y	C	171	167	1.6	185	1.8	174	1.7	205	2.0	220	2.1
Romania	Y	C	1404	1302	6.5	698	3.5	989	5.0	1285	6.4	1105	5.5
Slovakia	Y	C	4026	3802	70.3	4627	85.6	3897	72.3	4942	91.7	4182	77.7
Slovenia	Y	C	316	316	15.4	392	19.1	400	19.5	363	17.7	616	30.3
Spain ^(f)	N	C	4537	4537	32.4	4224	36.1	3786	32.5	4420	38.0	4304	37.2
Sweden	Y	C	2842	2842	29.7	2922	30.8	2887	30.7	3612	38.7	3054	33.0
United Kingdom	Y	C	8465	8465	13.2	8812	13.9	9455	15.1	9670	15.6	10479	17.0
EU Total	-	-	85268	82694	20.4	90883	22.1	96682	20.9	101589	22.1	110179	24.0
Iceland	Y	C	49	49	15.2	38	11.9	45	14.1	34	10.7	35	11.0
Liechtenstein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Norway	Y	C	1362	1361	26.9	1371	27.5	1290	26.2	1370	28.2	1235	25.7
Switzerland ^(g)	Y	C	1271	1271	15.8	1242	15.6	1301	16.5	1177	15.1	1302	16.9

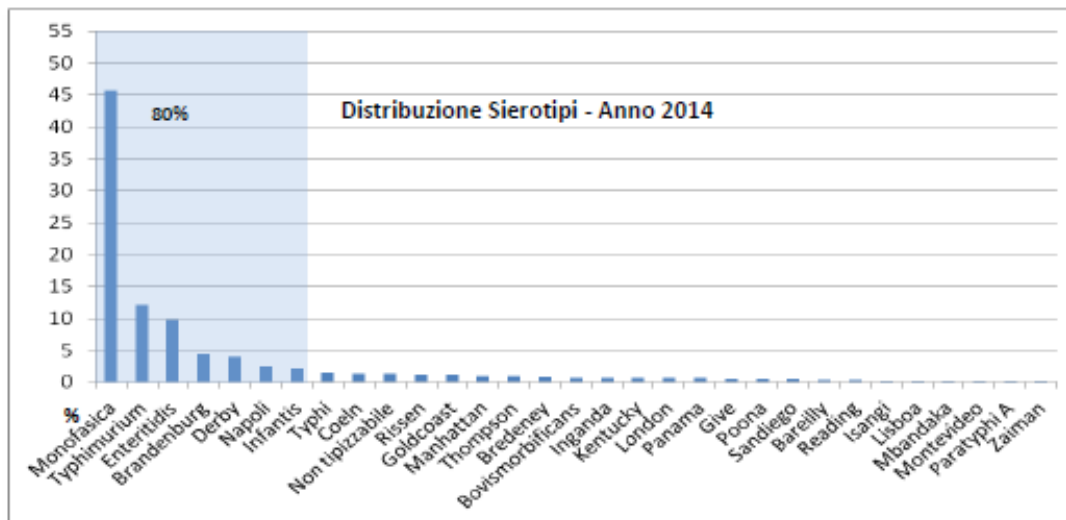
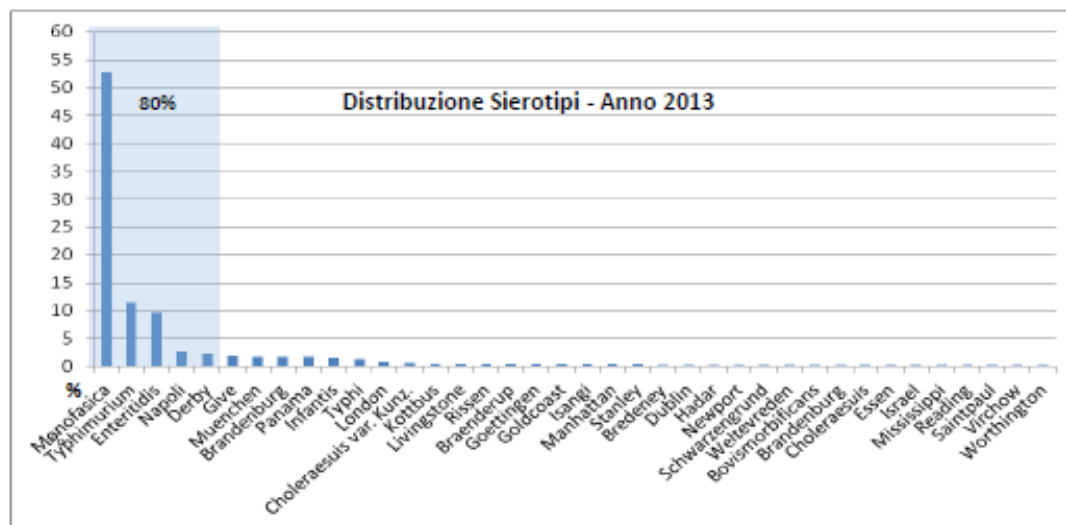
Table 3. Distribution of reported confirmed cases of human salmonellosis in the EU/EEA, 2011–2013, by the 20 most frequent serovars in 2013

Serovar	2011			2012			2013		
	Cases	MS	%	Cases	MS	%	Cases	MS	%
Enteritidis	36064	27	44.6	33850	27	41.2	29090	27	39.5
Typhimurium	20068	27	24.8	18216	27	22.2	14852	27	20.2
Monophasic Typhimurium 1.4.[5].12:i:-	3739	10	4.6	5932	12	7.2	6313	14	8.6
Infantis	1760	25	2.2	2007	26	2.4	2226	25	3.0
Derby	710	22	0.9	732	21	0.9	818	21	1.1
Stanley	516	22	0.6	1115	20	1.4	813	21	1.1
Newport	803	23	1.0	770	21	0.9	714	21	1.0
Kentucky	579	22	0.7	647	23	0.8	651	23	0.9
Agona	476	21	0.6	470	18	0.6	581	24	0.8
Virchow	495	25	0.6	544	20	0.7	571	22	0.8
Muenchen	187	18	0.2	253	20	0.3	448	17	0.6
Napoli	320	14	0.4	376	16	0.5	434	14	0.6
Bovismorbificans	423	19	0.5	421	20	0.5	412	20	0.6
Saintpaul	384	18	0.5	372	18	0.5	401	18	0.5
Montevideo	375	18	0.5	298	18	0.4	375	18	0.5
Panama	259	14	0.3	705	14	0.9	352	16	0.5
Brandenburg	272	13	0.3	303	17	0.4	290	17	0.4
Oranienburg	371	18	0.5	315	16	0.4	274	15	0.4
Hadar	291	18	0.4	307	20	0.4	267	19	0.4
Rissen	250	17	0.3	293	19	0.4	266	20	0.4
Other	12690	-	15.7	14550	-	17.7	13745	-	18.7
Total	80782	27	100.0	82183	27	100.0	73627	27	100.0

Source: 25 MS and two non-MS-Austria, Belgium, Cyprus, Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Iceland, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malta, Netherlands, Norway, Portugal, Romania, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden and United Kingdom.



Fig. 2 Sierotipi rilevati negli anni 2013 e 2014 con almeno 2 isolati.
In evidenza i sierotipi che comprendono l'80% dei ceppi isolati.



Risultati

Prevalenza e sierotipi di Salmonella spp. isolati dai LNI dei suini macellati

- 18,78% prevalenza totale
- 21 sierotipi isolati
- **S. Typhimurium variante monofasica** sierotipo più isolato (4,47%)
- S. Rissen (3,25%)
- S. Derby (2,68%)
- S. Typhimurium (0,74%)
- 38 partite su 41 (92,7%) positive per la presenza di almeno un sierotipo di Salmonella

Sierotipi di <i>Salmonella enterica</i> isolati	LNI positivi (n)	% prevalenza
4,[5],12:i:-	55	4,47
Rissen	40	3,25
Derby	33	2,68
Oranienburg	19	1,55
Goldcoast	18	1,46
London	17	1,38
Branderburg	12	0,98
Typhimurium	9	0,74
Livingstone	8	0,66
Montevideo	3	0,24
Choleraesuis	3	0,24
Bradney	3	0,24
0:1,3,19 (E4)	2	0,16
Kapemba	2	0,16
Umbilo	1	0,08
Thompson	1	0,08
Panama	1	0,08
Muenster	1	0,08
Mishmarhaemek	1	0,08
Kottbus	1	0,08
Infantis	1	0,08
Totale	231	18,78%

Variante monofasica da suino

Antibiotico resistenza e fenotipi di resistenza:

☐ 90,42% resistenti a 4 o più antibiotici (multiresistenti)

- 48,94% **ASSuT** (tetraresistente)
- 41,49% **ACSSuT** (pentaresistente)
- 19,15% degli ASSuT anche resistente alla **GEN**
- 36,17% degli ACSSuT anche resistente al **FFN**

Antibiotico	N° isolati resistenti Tot=94	% isolati resistenti
Ampicillina	87	92,55%
Cloramfenicolo	40	42,55%,
Streptomicina	94	100%
Sulfametossazol o	94	100%
Tetraciclina	85	90,43%
Gentamicina	55	58,51%
Florfenicolo	38	40,43%
Kanamicina	38	40,43%
Trimetoprim	28	29,79%
Acido nalidixico	35	37,23%
Colistina	19	20,21%
Cefotaxime	6	6,38%
Ceftazidime	11	11,70%
Ciprofloxacina	5	5,32%

Malattia nell'uomo

- Tifo e paratifo
- Sindrome tossinfettiva gastroenterica
 - Diarrea, dolori addominali, vomito
 - Febbre
 - Età, stato immunitario, virulenza del ceppo
 - Moltiplicazione a livello di lamina propria della mucosa intestinale
 - Flogosi locale
 - No setticemia
 - Stato di portatore asintomatico

Resistenza ai fattori chimico fisici

- Batteri termolabili inattivati dai normali processi di cottura e pastorizzazione
- Scarsamente alofili:
 - Moltiplicano ad aw fra 0,999 e 0,95
 - Sopravvivenza anche ad aw inferiori
- pH 3,8-9,5

Clostridium botulinum

	C. BOTULINUM GROUP					
	I	II	III	IV*	C. baritii	C. butyricum
Toxin type	A, B, F	B, E, F	C, D	G	F	E
Growth temperature (°C)						
Optimum	35 – 40	18 – 25	40	37	30 – 37	30 – 45
Minimum	12	3.3	15			10

- Esistono 7 tossinotipi di *C. Botulimun*
- A,B,E e raramente F associati a botulismo umano
- C e D associati a botulismo in altre specie animali

Clostridium botulinum

- **Spore:** forma di resistenza del batterio.
 - Resistono fino a 3-5 ore alla temperatura di 100 gradi
 - Inattivazione 121°C in 180 secondi
 - Presenti nell'intestino dei mammiferi e nell'ambiente
- **La tossina** è termolabile. Inattivata a 80°C in 10 minuti

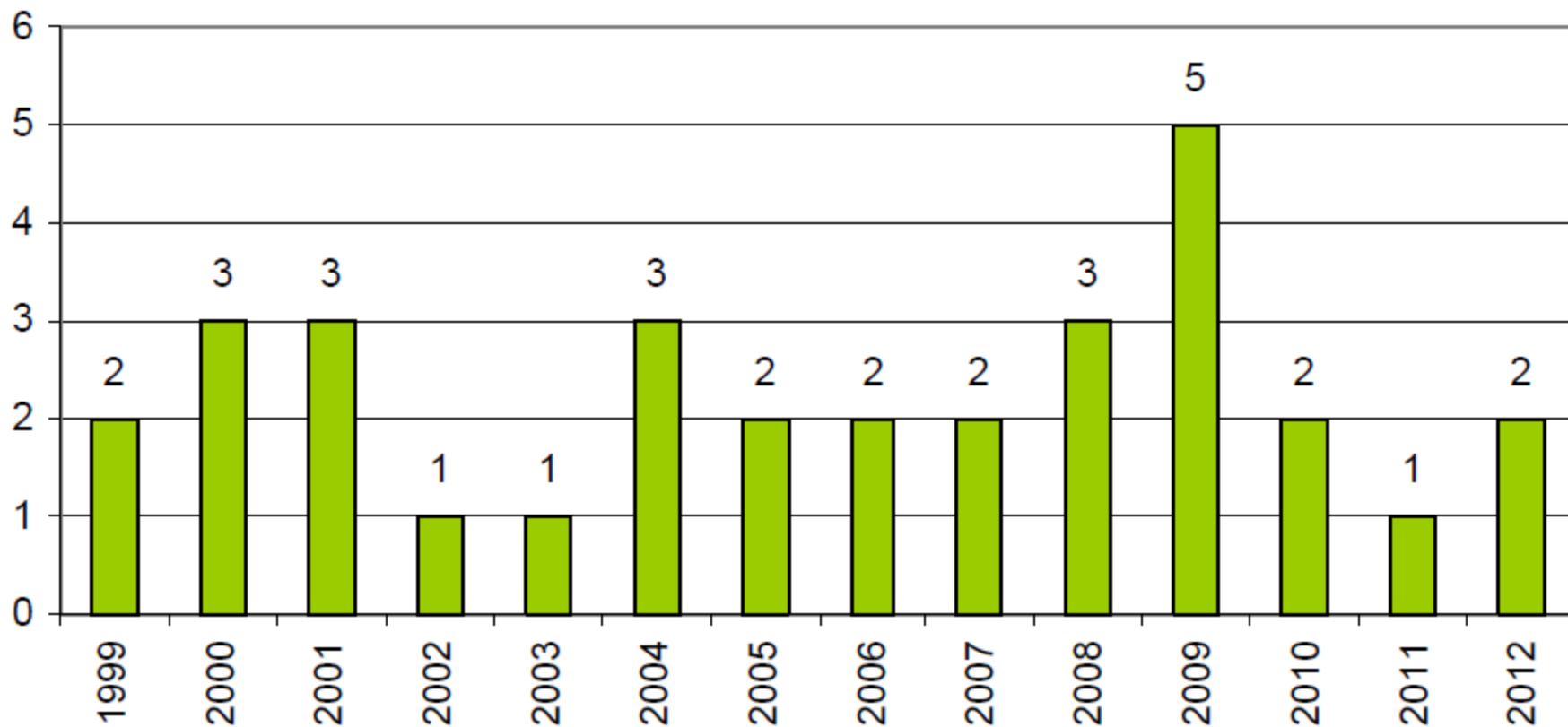
Forme di botulismo

- **Botulismo alimentare:**
 - Ingestione di tossina preformata negli alimenti
- **Botulismo da ferita:**
 - Contaminazione con spore di ferite lacero contuse
- **Botulismo infantile:**
 - Colonizzazione del lume intestinale in bambini di età <12 mesi e produzione di tossina *in situ*
- **Botulismo intestinale nell'adulto:**
 - Rarissimo, stesso meccanismo del botulismo infantile. Predisposizione anatomica del tratto g.i. o grave alterazione flora intestinale

Botulismo alimentare

- Intossicazione acuta caratterizzata clinicamente da sindrome neuro-paralitica
- Letalità 70-80% in assenza di respirazione assistita
- Prodotta da tossina elaborata da ceppi neutossigeni del genere *Clostridium*
 - ***Clostridium botulinum***
 - *Clostridium barati*
 - *Clostridium butyricum*

Casi notificati di Botulismo per anno. Emilia-Romagna, 1999-2012



Botulismo alimentare: alimenti implicati

Alimento	2008	2009	2010	2011
Conserve vegetali sott'olio e in acqua	54%	33%	52%	56%
Prodotti ittici freschi o sott'olio	17%	13%	4%	-
Salse	7%	7%	-	-
Conserve di carne	-	7%	4%	5%
Insaccati	3%	3%	8%	5%
Conserve varie	6%	-	-	5%
Non specificato	-	20%	20%	10%
Non riportato	13%	17%	12%	19%

Alimenti e tossinogenesi

- Il botulismo alimentare è causato da tossina preformata in alimenti nei quali le spore trovano le condizioni per germinare
- La germinazione delle spore da origine a forme vegetative in grado di replicare se le caratteristiche dell'alimento lo consentono
- La tossina **si libera a seguito della lisi** delle forme vegetative che si sono moltiplicate
- Le spore non rappresentano un pericolo se le caratteristiche dell'alimento non ne permettono l'attivazione

Alimenti: fattori preventivi

	Ceppi proteolitici	Ceppi non proteolitici
Tossino-tipo	A,B,F	E,B,F
pH limitante la crescita	4,6	5
aw limitante la crescita	0,94	0,97
Range di temperatura per la crescita	10-48°C	3,3-45°C
Temperatura ottimale di crescita	37-40°C	26-30°C
Concentrazione NaCl limitante	10%	5%

Botulismo e prosciutto crudo

- Mai associato alla produzione industriale
- Descritti casi da consumo di prosciutti di produzione domestica
- La contaminazione da spore deve essere presente nelle parti profonde della muscolatura (anaerbiosi):
 - trasporto per via ematica durante la iugulazione
 - Trasporto per via linfatica dalla superficie muscolare alla profondità
 - Trasporto per via meccanica (coltelli?)
- Le spore devono trovare le condizioni ambientali per germinare e moltiplicarsi (tossina prodotta a concentrazioni $>10^5$ ufc/g)

Staphylococcus aureus enterotossico

- Batterio gram positivo (cocco)
- Una parte dei ceppi appartenenti alla specie è produttore di enterotossina termostabile
- Esistono 9 tipi (A-G, tre tipi di tossina C)
- L'intossicazione umana è causata dai tipi A e D
- La sintomatologia compare con livelli di enterotossina elevati nell'alimento
- Corrispondenti a livelli di contaminazione di almeno 10^5 ufc/g

Vie di contaminazione alimenti

- Cute degli animali
- Cross contaminazione ambienti e attrezzature
- Addetti alla lavorazione (portatori a livello nasale)

Caratteristiche di crescita e resistenza

- La produzione di tossina può avvenire nelle seguenti condizioni
 - pH 4-9 Ottimale: 5,3-7,0
 - aw: > 0,84 Ottimale > 0,90
 - T 10-45°C Ottimale 35-40°C
 - Concentrazione NaCl fino al 10%

Malattia nell'uomo

- Intossicazione con tempi di insorgenza fra le 2 e le 8 ore dopo l'ingestione
- L'alimento deve essere conservato in condizioni permissive per la produzione di tossina
- Tipicamente legato al consumo di alimenti precotti e mal conservati
- Raramente associato a prodotti stagionati

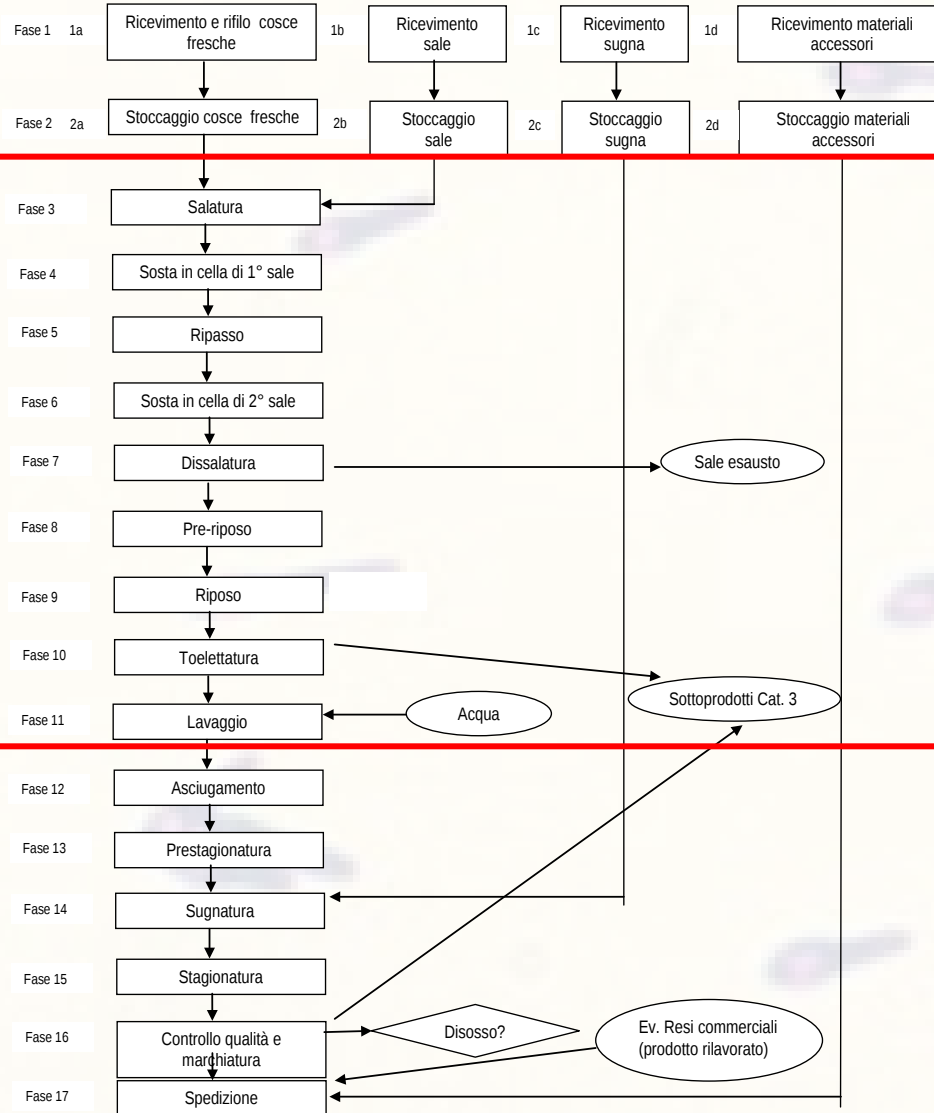
Malattia nell'uomo

- Nausea
 - Vomito
 - Crampi addominali
 - Diarrea
-
- Azione mediata dalla tossina a livello di SNC (centro emetico) ed intestinale

Prosciutto di Parma: fattori preventivi

- Freddo
- Azione osmotica diretta NaCl
- Diminuzione progressiva a_w nella massa muscolare
- Igiene della lavorazione, igiene ambientale, igiene del personale

PUNTO 3 - IL PROCESSO
Diagramma di flusso – Prosciutto intero



FASE N°	DENOMINAZIONE	L. monocytogenes	Salmonella	S. aureus	C. botulinum
1a	RICEVIMENTO E RIFILATURA COSCE FRESCHE	Le cosce fresche possono essere contaminate	Le cosce fresche possono essere contaminate	Le cosce fresche possono essere contaminate	Le cosce fresche possono essere contaminate
1b	RICEVIMENTO SALE	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
1c	RICEVIMENTO SUGNA	Possibile contaminazione	Possibile contaminazione	Possibile contaminazione	Non rilevante
1d	RICEVIMENTO MATERIALI ACCESSORI	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
2a	STOCCAGGIO COSCE FRESCHE	- Possibile contaminazione da superfici - Rischio di moltiplicazione non rilevante se temperature corrette	- Possibile contaminazione da superfici - Rischio di moltiplicazione non rilevante se temperature corrette	- Possibile contaminazione da superfici - Rischio di moltiplicazione non rilevante se temperature corrette	- Rischio di moltiplicazione non rilevante se temperature corrette
2b	STOCCAGGIO SALE	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
2c	STOCCAGGIO SUGNA	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
2d	STOCCAGGIO MATERIALI ACCESSORI	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante

FASE N°	DENOMINAZIONE	L. monocytogenes	Salmonella	S. aureus	C. botulinum
3	SALATURA	Possibile contaminazione da ambiente	Non rilevante	Possibile contaminazione da ambiente	Non rilevante
4	SOSTA IN CELLA 1° SALE	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta
5	RIPASSO	Possibile contaminazione da ambiente	Non rilevante	Possibile contaminazione da ambiente	Non rilevante
6	SOSTA IN CELLA 2° SALE	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta
7	DISSALATURA	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Non rilevante
8	PRE-RIPOSO	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta
9	RIPOSO	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta	Non rilevante se temperatura corretta
10	TOILETTATURA	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Non rilevante
11	LAVAGGIO	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Non rilevante

FASE N°	DENOMINAZIONE	L. monocytogenes	Salmonella	S. aureus	C. botulinum
11	LAVAGGIO	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Non rilevante
12	ASCIUGAMENTO	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Moltiplicazione inibita se aw al cuore <0.97 corrispondente ad un calo peso almeno del 13% a inizio fase
13	PRE-STAGIONATURA	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Moltiplicazione inibita se aw al cuore <0.97
14	SUGNATURA	Possibile contaminazione da ambiente, personale, attrezzature, sugna	Possibile contaminazione da ambiente, personale, attrezzature	Possibile contaminazione da ambiente, personale, attrezzature	Non rilevante
15	STAGIONATURA	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Non rilevante per valori di aw superficiale <0,92	Non rilevante per valori di aw al cuore <0,95
16	CONTROLLO QUALITA' E MARCHIATURA	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
17	SPEDIZIONE	Possibile contaminazione da ambiente, personale e attrezzature	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante

FASE N°	DENOMINAZIONE	L. monocytogenes	Salmonella	S. aureus	C. Botulinum
1	RICEVIMENTO PRODOTTO IN OSSO	Contaminazione prosciutti in entrata Contaminazione, per scarsa igiene dell'area di ricevimento e del personale	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
2	STOCCAGGIO	Contaminazione, per scarsa igiene dell'area di ricevimento e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene dell'area di ricevimento e del personale	Non rilevante	Non rilevante
3	LAVAGGIO	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
4	TOELETTATURA	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
5	DISOSSO	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
6	LEGATURA- AGGRAFFATURA	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
7	PRESSATURA	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
8	TRANCIATURA	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
9	CONFEZIONAMENTO PRODOTTO DISOSSATO	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
10	STOCCAGGIO PRODOTTO FINITO	Non rilevante	Non rilevante	Sviluppo inibito da temperature <10°C	Non rilevante

FASE N°	DENOMINAZIONE	L. monocytogenes	Salmonella	S. aureus	C. Botulinum
1	RICEVIMENTO PRODOTTO IN OSSO	Contaminazione prosciutti in entrata Contaminazione, per scarsa igiene dell'area di ricevimento e del personale	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
2	STOCCAGGIO	Contaminazione, per scarsa igiene dell'area di ricevimento e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene dell'area di ricevimento e del personale	Non rilevante	Non rilevante
3	LAVAGGIO	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante	Non rilevante
4	TOELETTATURA	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
5	DISOSSO	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
6	LEGATURA- AGGRAFFATURA	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
7	PRESSATURA	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
8	TRANCIATURA	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
9	CONFEZIONAMENTO PRODOTTO DISOSSATO	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene delle attrezzature e del personale	Contaminazione, per scarsa igiene del personale	Non rilevante
10	STOCCAGGIO PRODOTTO FINITO	Non rilevante	Non rilevante	Sviluppo inibito da temperature <10°C	Non rilevante

Grazie dell'attenzione e buon proseguimento dei lavori

giuseppe.merialdi@izsler.it