

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute
SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN ISPEZIONE
DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE

DISSERTAZIONE DI DIPLOMA

Prevalenza di *Listeria monocytogenes* e
Salmonella spp. nei prodotti a base di carne
delle Piccole Produzioni Locali del Veneto

RELATORE: Prof. VALERIO GIACCONE

CORRELATORE: Dott.ssa MICHELA FAVRETTI

Specializzanda:

Dott.ssa GIOVANNA ZAMUNER

Anno Accademico: 2019/2020

Indice

Riassunto	1
Abstract	3
1-Introduzione	5
1.1- Il Progetto Piccole Produzioni Locali del Veneto: le Delibere	6
1.2- Prodotti a base di carne: le aziende PPL coinvolte	10
2-Materiali e metodi	13
2.1- Piano di campionamento.....	13
2.2- Metodi di laboratorio utilizzati per le analisi.....	15
3-Risultati e Analisi dei dati	17
3.1- Risultati per <i>Listeria monocytogenes</i>	17
3.1.1- Campioni totali	17
3.1.2- Prevalenza di <i>Listeria monocytogenes</i> su campioni di insaccato fresco.....	18
3.1.3- Prevalenza di <i>Listeria monocytogenes</i> su campioni di insaccato stagionato	20
3.2- Risultati per <i>Salmonella</i> spp.	22
3.2.1- Campioni totali	22
3.2.2- Prevalenza di <i>Salmonella</i> spp. su campioni di insaccato fresco.....	22
3.2.3- Prevalenza di <i>Salmonella</i> spp. su campioni di insaccato stagionato.....	24
4- Discussione	27
4.1- <i>Listeria monocytogenes</i>	27
4.2- <i>Salmonella</i> spp.	31
5- Conclusioni	35
Bibliografia	37
Webgrafia	41

Riassunto

Il Veneto è la regione italiana con il più alto numero di prodotti agroalimentari tradizionali, a cui si affiancano delle produzioni caratterizzate dall'essere marginali ma fortemente legate al territorio e alla tradizione locale. Con la finalità di tutelare la salute del consumatore la Regione ha sviluppato il Progetto Piccole Produzioni Locali (PPL), attraverso delle Delibere Regionali emanate nel corso degli anni. Il progetto ha previsto la definizione del "paniere", cioè di tutti gli alimenti trasformati che possono essere prodotti seguendo metodi tradizionali e la valutazione del rischio legato a tali produzioni; è stato elaborato, inoltre, un protocollo operativo destinato ai produttori, sono stati redatti dei manuali di buone prassi specifici per le principali tipologie di alimenti e infine è stato definito un piano di campionamento per la valutazione della sicurezza microbiologica dei prodotti PPL, che comprendono diverse tipologie di alimenti, sia di origine vegetale che animale. Di quest'ultimi, salami e sopresse rappresentano la categoria predominante e in questa tesi sono state analizzate le prevalenze di *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., nel periodo 2010-2020, per valutare la salubrità di queste produzioni. I dati ottenuti concordano con i risultati riscontrati in bibliografia, dimostrando che nonostante l'applicazione di misure operative semplificate è possibile ottenere salumi sicuri dal punto di vista microbiologico, pur utilizzando metodi tradizionali. I punti critici a cui gli operatori devono porre attenzione sono le contaminazioni delle materie prime (che si possono verificare in allevamento e al macello), per evitare di avere alte cariche sul prodotto finito e la stagionatura che, se non eseguita correttamente, porta ad un'attività dell'acqua troppo elevata (superiore a 0,92) e al mancato abbattimento di *Listeria monocytogenes* (che deve essere inferiore a 10 ufc/g) e *Salmonella* spp. (che deve essere assente) potenzialmente presenti.

Abstract

Veneto region has the highest number of traditional agri-food products, labelled as *prodotti agroalimentari tradizionali* in the Italian legislation. Beside these products, there are some fringe local productions strongly related to the traditions of the area. The Region developed a project called *Piccole Produzioni Locali*, through some Regional Committee Resolutions issued over the years. This project defined a *paniere*, a set of processed products made according to traditional manners, and the risk analysis of this kind of foodstuffs. Specific good hygiene practice and good manner practice guides were created, in order to help the operators, and a sampling plan was defined, to evaluate the food safety. The *paniere* includes both products of animal origin and vegetable origin. The main food of animal origin produced by PPL are salami and sopresse; this dissertation analyzes the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in these cured meats, produced in the period 2010-2020, to evaluate their salubrity. An agreement between the data observed and the results of the bibliographic studies is shown and it proves that it's possible to obtain safe salami although the use of traditional methods. Contamination of raw meat is the first critical phase of the process; in fact, environmental contamination from farms and slaughterhouses can occur. The second critical phase is ripening, because a failure in this stage results in a final product with an improper water activity (higher than 0,92) and a lack in the reduction of *Listeria monocytogenes* (that has to be less than 10 cfu/g) and *Salmonella* spp. (that has to be not detectable), pathogen which can be found in the ripened product.

1- Introduzione

La Regione Veneto è caratterizzata da una forte tradizione agroalimentare, tutelata con l'inclusione di determinate produzioni in regimi di qualità, come da Decreto MIPAAF del 14 ottobre 2013, quali le denominazioni di origine protetta (DOP), le indicazioni geografiche protette (IGP) e le specialità tradizionali garantite (STG), caratterizzati dall'attribuzione di determinate caratteristiche del prodotto al territorio ed ai metodi di produzione e trasformazione (il concetto di "tradizione"). A queste, disciplinate e tutelate a livello comunitario, si affiancano le produzioni agroalimentari tipiche (PAT), introdotte a livello nazionale dal D.L. 173/98 e dal D.M. 350/99, ovvero prodotti le cui metodiche di lavorazione, produzione e stagionatura risultino consolidate nel tempo, per un periodo di almeno 25 anni. I dati aggiornati al 2020 (MIPAAF, 2020) per la Regione Veneto constano di 2 DOP e 101 PAT per quanto riguarda le carni fresche e le loro preparazioni, dando alla Regione il primato nelle produzioni tipiche (Tabella 1.1).

REGIONE	PAT
ABRUZZO	25
BASILICATA	17
CALABRIA	28
CAMPANIA	49
EMILIA ROMAGNA	47
FRIULI VENEZIA GIULIA	44
LAZIO	57
LIGURIA	27
LOMBARDIA	70
MARCHE	30
MOLISE	32
PIEMONTE	62
PROV. TRENTO	35
PROV. BOLZANO	16
PUGLIA	24
SARDEGNA	17
SICILIA	6
TOSCANA	80
UMBRIA	13
VALLE D'AOSTA	7
VENETO	101

Tabella 1.1- Elenco PAT - Carni (e frattaglie) fresche e loro preparazioni (rielaborazione dati)

Oltre ai prodotti certificati sopra citati, tuttavia, vi sono in Veneto delle produzioni marginali, caratterizzate da un forte legame con il territorio e con la tradizione, a fronte di un mercato molto contenuto. Dalla necessità di regolamentare questo tipo di produzioni che di fatto non rientrano espressamente nella Normativa sulla Sicurezza Alimentare, è nato il Progetto Piccole Produzioni Locali.

1.1- Il Progetto Piccole Produzioni Locali del Veneto: le Delibere

Il Progetto Piccole Produzioni Locali esiste nella Regione Veneto da più di un decennio ed è fondato sulla necessità di armonizzare la tradizione e la tipicità delle produzioni primarie alla normativa vigente per quel che riguarda la Sicurezza Alimentare, grazie al concetto di "flessibilità", enunciato sin dal Regolamento (CE) n. 852/04 (*consideranda* 14, 15 e 16) dove ne viene data una prima definizione, esplicitata poi nella SANCO/1955/2005 Rev. 3 e nella SANCO/10098/2009 Rev. 2/2014, con cui sono state disciplinate le attività localizzate, marginali e limitate, e l'utilizzo di procedure semplificate di autocontrollo, come previsto per le piccole imprese (successivamente ribadito negli atti della Conferenza Stato Regioni del 10 novembre 2016, n. 212).

Con la Delibera della Giunta Regionale n. 2016 del 3 luglio 2007 si è posta l'attenzione sulle realtà non direttamente sottostanti ai Regolamenti del Pacchetto Igiene, per loro natura: si tratta, infatti, di attività di fornitura diretta di piccoli quantitativi di prodotti primari dal produttore al consumatore finale, a livello locale (all'interno della provincia/nelle province contermini). Per esse è stata ritenuta di fondamentale importanza la necessità di un'armonizzazione con la normativa vigente al fine di garantire la tutela del consumatore anche per quei prodotti aventi caratteristiche di tipicità locale, significativamente presenti nel territorio della Regione.

La Delibera ha così descritto il processo di registrazione delle strutture e i requisiti strutturali e di lavorazione per produrre PPL (Piccole Produzioni Locali)

ed ha delineato, altresì, le modalità di controllo da parte dell'autorità competente ai fini del rilascio della registrazione.

Se con la prima Delibera è stata regolamentata la produzione e la vendita dei suddetti prodotti agricoli, nell'anno successivo è stata posta attenzione alle categorie di alimenti di origine animale, ovvero le carni avicunicole fresche e suine trasformate.

Con la Delibera n. 1892 dell'8 luglio 2008 è stato avviato il progetto sperimentale sulla produzione, lavorazione e vendita di tali carni, fissando i parametri produttivi e garantendo l'identificazione degli animali destinati a tal fine all'interno dell'allevamento.

All'articolo 2 dell'Allegato A, viene specificato che, per essere inclusi nel Progetto, è consentito un massimo di 30 suini/anno destinato alla produzione di salumi. Detti animali devono esser stati allevati per almeno 4 mesi nell'azienda interessata e la macellazione deve aver luogo in stabilimenti di macellazione autorizzati, entro un determinato arco temporale (da metà ottobre fino a fine febbraio); viene definito anche un numero massimo di capi lavorati settimanalmente (3 suini), vincolando la capacità giornaliera in funzione degli spazi disponibili per le operazioni.

Vi è, inoltre, un aggiornamento dei requisiti strutturali per i locali di lavorazione, nonché una maggior attenzione alla raccolta e allo smaltimento degli scarti di lavorazione. E' con questa Delibera che si inizia a parlare di Autocontrollo, Etichettatura e Rintracciabilità delle PPL, garantendo così un elevato livello di sicurezza per il consumatore finale, specie per quei prodotti maggiormente presenti nel territorio per tradizione, e più "sensibili" per loro natura. Per le altre tipologie produttive rientranti nella definizione di PPL, sono rimasti inalterati i requisiti previsti dalla Delibera 2016/2007.

Con l'aumento della richiesta e dell'interesse per i prodotti PPL da parte sia dei produttori coinvolti, che dei consumatori, nel settembre del 2010 (Delibera n. 2280 del 28 settembre 2010), alla luce dei risultati ottenuti nel primo biennio sperimentale, sono stati sviluppati 3 allegati sostituenti i precedenti, per armonizzare le procedure su tutto il territorio regionale, sia per le carni trasformate

che per gli altri prodotti del Progetto, avente una durata triennale. Nella produzione di salumi è stata inserita la possibilità di utilizzare carni provenienti da altre specie allevate nella medesima azienda o cacciate, fermi restando il limite quantitativo precedentemente fissato (6 UGB equivalenti) e la macellazione (o il transito per l'ispezione veterinaria, nel caso di carcasse di ungulati cacciati) presso stabilimenti riconosciuti. A fronte del biennio sperimentale precedente, nell'Allegato A di questa Delibera vengono delineati i parametri fisico-chimici dei prodotti di salumeria: gli stagionati devono avere a fine stagionatura un'attività dell'acqua (*water activity* o a_w) inferiore o uguale a 0,92 e presentare nella ricetta una percentuale di sale non inferiore al 2,5%; per i freschi, invece, viene specificata la condizione di utilizzo, ovvero il consumo previa cottura. Nel medesimo Allegato, inoltre, viene introdotto l'obbligo per il produttore primario di adozione di un manuale di buone pratiche igieniche, andando, così, ad implementare il sistema di autocontrollo anche in queste realtà più semplificate.

È con la Delibera n. 1526 del 31 luglio 2012 che si parla per la prima volta del concetto di "paniere", ovvero si dà una definizione di tutti i prodotti considerati PPL, andando a delineare per ciascuno di questi una vera e propria scheda tecnica con descritti i requisiti di processo e di sicurezza. Nell'Allegato A1 vengono definiti i requisiti per i prodotti a base di carne, indicando specificatamente come essi riguardino l'intera filiera del processo e, seppur mantenendo gli stessi limiti quantitativi e temporali della precedente Delibera, vengono differenziate le attività di produzione per quanto concerne i comuni di montagna (determinati nella DGR n. 2560 del 16 settembre 2008, all'Allegato F), per i quali il periodo di lavorazione viene prolungato al 31 marzo. Nella scheda tecnica vengono chiaramente citati i parametri della ricetta (contenuto di sale ed attività dell'acqua del prodotto finale), con l'indicazione di inserire nell'etichetta la modalità di consumo (già descritta nella precedente Delibera, ma meglio esplicitata per il produttore in questa scheda tecnica).

Se da un lato l'innovazione della Delibera è stata quella di delineare inequivocabilmente per ciascun prodotto la caratterizzazione ed i parametri produttivi, dall'altro lato si è posta una maggiore attenzione all'aspetto della formazio-

ne del personale. Con l'Allegato D viene specificata la tipologia di formazione necessaria a tutto il personale coinvolto, ovvero un corso di almeno 15 ore, validato dall'Autorità Competente per territorio e dedicato alla produzione di PPL, sia con argomenti comuni a tutto il paniere (quali le buone prassi igieniche di produzione e commercializzazione, la rintracciabilità, la formazione sulla microbiologia e tecnologia alimentare), che specifici per il tipo di produzione svolta, creando così dei percorsi *ad hoc* per la particolare realtà di questi produttori.

Le due successive Delibere non hanno apportato cambiamenti significativi ai requisiti di prodotto, strutturali ed alla modulistica, ma sono andate ad arricchire le potenzialità di produzione e vendita del paniere. Con la Delibera n. 1070 del 11 agosto 2015, vi è stato un ulteriore ampliamento di suddetto paniere, con l'introduzione dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura, il latte e i prodotti lattiero-caseari ed i prodotti dell'elicoltura. La Delibera successiva, la n. 2162 del 29 dicembre 2017 ha allargato la possibilità di vendita dei prodotti anche mediante l'*e-commerce*, fornendo, così, una nuova risorsa per ampliare la commercializzazione dei propri prodotti.

Di recente pubblicazione è l'ultima Delibera regionale, la n. 1248 del 01.09.20, che per il quinquennio 2020-2025 apporta sostanziali innovazioni al Progetto:

- L'inserimento di nuove tipologie di prodotto al paniere, quali le produzioni dei bilancini da pesca ed i prodotti finiti (naturalmente ottenuti da prodotti primari provenienti dalla regione) preparati nell'ambito educativo, ovvero dagli Istituti statali superiori del settore alberghiero e delle cooperative sociali di TIPO B (di cui alla Legge 381/1991, aventi la finalità di formare le persone svantaggiate per il reinserimento nel mondo del lavoro);
- L'estensione della possibilità di vendita anche a manifestazioni enogastronomiche fuori regione (previa, naturalmente, autorizzazione dell'Autorità Competente);
- Un aggiornamento nelle modalità di formazione, prevedendo un modulo comune a tutti gli operatori PPL ed un modulo specifico per la tipologia di

produzione d'interesse (della durata di 5 ore, comprendente anche una parte pratica);

- Una semplificazione nei procedimenti amministrativi nel corso della registrazione e l'obbligo di iscrizione al sito web PPL (www.pplveneto.it), al fine di migliorare l'aspetto della comunicazione, sia fra le imprese e gli organi ufficiali coinvolti nel progetto, sia con il consumatore finale.

1.2- Prodotti a base di carne: le aziende PPL coinvolte

Nel decennio 2010-2020 i produttori primari che hanno aderito al progetto, relativamente alla produzione di prodotti a base di carne, sono stati 426. Nella Figura 1.2.1 viene riportata la distribuzione di tali aziende agricole in base all'Azienda Sanitaria Locale di appartenenza.

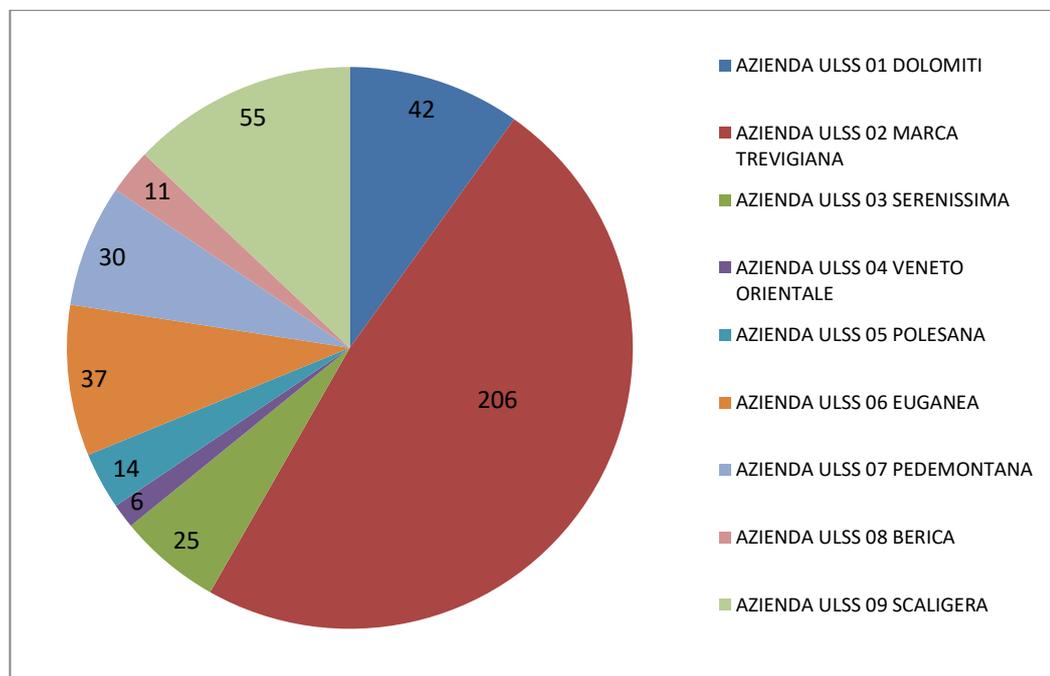


Figura 1.2.1- Distribuzione PPL per ASL

Una grossa parte dei Produttori PPL è ubicata nei territori dell'Azienda ULSS 2 della Marca Trevigiana, da cui il progetto è partito: la Ex Azienda ULSS 8 di Asolo (ora accorpata all'AULSS 2) ha raccolto le richieste di alcuni produttori primari della zona di poter commercializzare salami e sopresse da essi pro-

dotti in maniera tradizionale. Alle prime adesioni al Progetto nel biennio 2009-2010 è seguita una massiccia partecipazione da parte degli agricoltori ed allevatori della medesima provincia, da qui il consistente numero di aziende del territorio trevigiano. Questa trattazione tiene conto delle sole aziende registrate al Progetto per quanto concerne i prodotti a base di carne; con il passare degli anni e con l'estensione del Paniere PPL, sempre più sono stati i produttori coinvolti, di conseguenza la Figura 1.2.1 rappresenta solo un dato parziale, riguardante la tipologia di prodotto comunque più caratteristica.

2- Materiali e metodi

2.1- Piano di campionamento

Dalla nascita del Progetto PPL a oggi è stato necessario mettere a punto e affinare un piano di campionamento, per focalizzare i pericoli microbiologici associati alla tipologia di produzione e, conseguentemente, formulare un'analisi del rischio il più possibile mirata sulla base del processo di produzione di salami e sopresse secondo tradizione.

Il piano è stato sviluppato dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie in collaborazione con le Autorità Competenti del Territorio, deputate sia alle attività di registrazione e controllo del processo dei produttori aderenti al progetto, sia al monitoraggio dei risultati.

Come detto in precedenza, la seconda Delibera regionale (DGR n. 1892 del 08 luglio 2008) ha delineato il primo progetto sperimentale, che ha coinvolto 21 produttori.

Il campionamento ha riguardato tutte le fasi coinvolte nella costituzione di ciascun lotto di prodotto finito, dall'allevamento (con la raccolta di campioni fecali), alla macellazione (durante la quale sono stati prelevati i linfonodi dei suini macellati per la ricerca di *Salmonella* spp.), per procedere poi ad analisi su campioni di impasto fresco e durante la maturazione di salami e sopresse. Oltre alle analisi microbiologiche, sugli impasti e sui prodotti in fase di stagionatura sono stati misurati il pH e l'attività dell'acqua.

Nel biennio successivo (2009-2010) il piano di campionamento è stato standardizzato per la maggioranza dei produttori (circa 40), mentre è stato effettuato anche un campionamento più intensivo sul prodotto in fase di stagionatura su 4 produttori selezionati.

Nel piano standard, oltre alle analisi microbiologiche (riguardanti un ampio *range* di microrganismi patogeni) e fisico-chimiche, è stato richiesto ai produttori di registrare alcuni parametri, quali il peso dei salumi (monitorato regolarmente), per valutare il calo peso finale, e parametri ambientali, quali la temperatura e l'umidità dei locali deputati all'asciugatura e alla stagionatura dei pro-

dotti. Questi dati sono stati raccolti anche in fase di consegna del prodotto finito, insieme al dettaglio degli ingredienti e delle loro quantità.

Il piano intensivo, comprendente 4 produttori selezionati, è stato implementato per valutare la correlazione tra il calo peso, l' a_w e la sopravvivenza dei microrganismi patogeni durante il processo di stagionatura, al fine di ricercare un valore soglia del calo peso per la più semplice standardizzazione del processo.

Le modifiche subite dal piano di campionamento negli anni successivi hanno portato a una riduzione del numero di microrganismi patogeni ed ambientali indagati, non andando più a ricercare, per esempio, *Campylobacter* spp. e *Yersinia enterocolitica* nell'impasto fresco, in quanto dai dati ottenuti dagli studi eseguiti in precedenza si sono ritenuti *hazard* a basso rischio rispetto alle modalità di preparazione e stagionatura dei prodotti. Nei campioni di impasto fresco si ricercano *Salmonella* spp. (determinazione solo qualitativa) e *Listeria monocytogenes* (per essa la determinazione è sia qualitativa che quantitativa). In caso di positività si procede al blocco della partita e alla rivalutazione dell'insaccato stagionato, per verificare se i valori siano rientrati nei limiti di legge. Nell'insaccato stagionato viene misurata l' a_w e viene ricercata la presenza di uno o entrambi i patogeni suddetti qualora l'impasto fresco sia risultato positivo. Per insaccato stagionato si intende il prodotto che abbia raggiunto un calo peso del 25%, solitamente ottenuto con una stagionatura di almeno 60 giorni per i salami, 120 giorni per le sopresse.

Se il campione risulta nuovamente positivo, si procede con un ulteriore riesame dei parametri microbiologici e fisico-chimici ad un tempo di stagionatura ulteriore, al fine di rivalutare l'idoneità al consumo o meno del lotto. In parallelo all'esecuzione delle analisi, permane per il produttore il dovere di verificare il calo peso con la registrazione delle misurazioni su un'apposita scheda. Per la valutazione di questo parametro l'operatore si riferisce al peso di 5 insaccati, che vanno scelti in maniera rappresentativa del lotto (ovvero, con eventuale variabilità di forma e peso, che includano anche potenziali differenze nella stagionatura).

Oltre alle analisi sul prodotto, il piano di campionamento prevede l'esecuzione di tamponi ambientali su superfici e attrezzature di lavoro, per valutare l'igiene dei locali di lavorazione (conteggiando la carica microbica totale mesofila, le Enterobacteriaceae e la presenza di *Listeria monocytogenes*).

Pur non essendo argomento di questa trattazione, è importante sottolineare come questi parametri siano implicitamente legati a quelli sul prodotto, i cui risultati conseguono anche all'igiene del processo.

L'idoneità al consumo o meno del prodotto è stata definita facendo riferimento ai criteri di sicurezza alimentare indicati dal Regolamento CE 2073/2005, adattandoli però alla realtà delle PPL secondo il concetto di flessibilità già spiegato precedentemente. Nello specifico, essendo le analisi effettuate su tutti i lotti, è stato scelto di procedere alla raccolta di una unità campionaria per lotto.

I salumi stagionati sono stati autorizzati alla vendita:

- considerando *Listeria monocytogenes*, per valori inferiori a 10 ufc/g (limite più stringente rispetto al Regolamento, che prevede 100 ufc/g);
- con l'assenza di *Salmonella* spp. in 25 grammi di prodotto (su un'unica unità campionaria).

2.2- Metodi di laboratorio utilizzati per le analisi

Le analisi di laboratorio sono state condotte dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, accreditato UNI CEI ISO/IEC 17025:2018. Le prove eseguite sono indicate in Tabella 2.2.1.

Prova	Metodo di prova
Attività dell'acqua	ISO 18787:2017
Ricerca di <i>Listeria monocytogenes</i>	AFNOR BRD 07/10 – 04/05
Conta di <i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-2:2017
Ricerca di <i>Salmonella</i> spp.	AFNOR BRD 07/06 – 07/04
Ricerca di <i>Salmonella</i> spp.	ISO 6579-1:2017 (escluso Annex D)

Tabella 2.2.1- Metodi di prova per le analisi di laboratorio

3- Risultati e Analisi dei dati

3.1- Risultati per *Listeria monocytogenes*

3.1.1- Campioni totali

Nel periodo 2010-2020 sono stati conferiti in totale 9179 campioni per la ricerca di *Listeria monocytogenes*, suddivisi per tipologia (Tabella 3.1.1.1).

TIPOLOGIA	N°
Campioni di insaccato fresco positivi	1088
Campioni di insaccato fresco negativi	7740
Campioni di insaccato stagionato positivi	83
Campioni di insaccato stagionato positivi <10 ufc/g	97
Campioni di insaccato stagionato negativi	171
Totale campioni conferiti	9179

Tabella 3.1.1.1- Campioni conferiti nel periodo 2010-2020

In Figura 3.1.1.1 i dati vengono espressi in percentuale, da cui si desume come la quantità di campioni positivi di entrambe le tipologie di insaccato sia, nell'intero periodo, estremamente ridotta sul totale. In particolare, i campioni le cui partite sono state bloccate in quanto aventi una carica di *Listeria monocytogenes* superiore ai limiti di legge, perciò non destinabili al consumo umano, è dell'1% sulla totalità dei campioni conferiti.

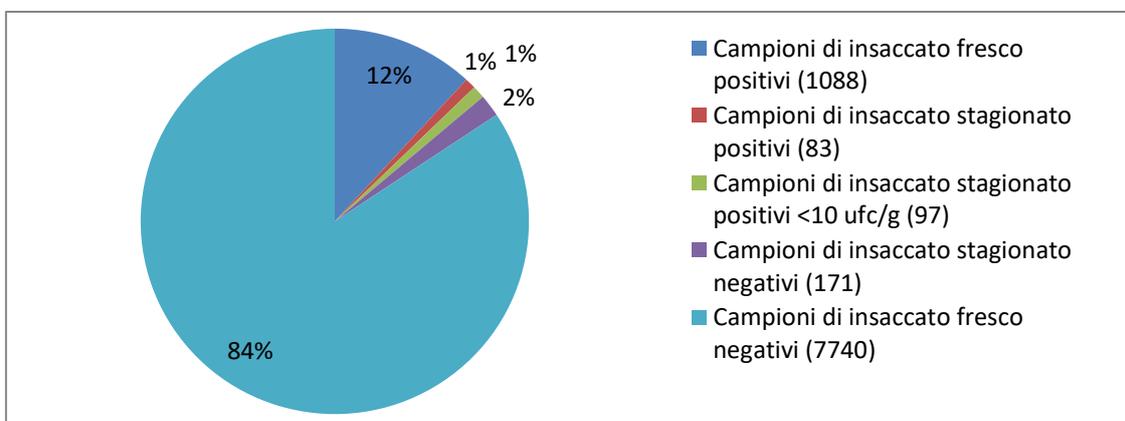


Figura3.1.1.1- Campioni conferiti per *Listeria monocytogenes* nel periodo 2009-2020 (percentuali)

3.1.2- Prevalenza di *Listeria monocytogenes* su campioni di insaccato fresco

I campioni di insaccato fresco conferiti nel periodo 2010-2020 sono stati in totale 8828. La prevalenza di campioni positivi per *Listeria monocytogenes* è stata del 12,32% (Figura 3.1.2.1).

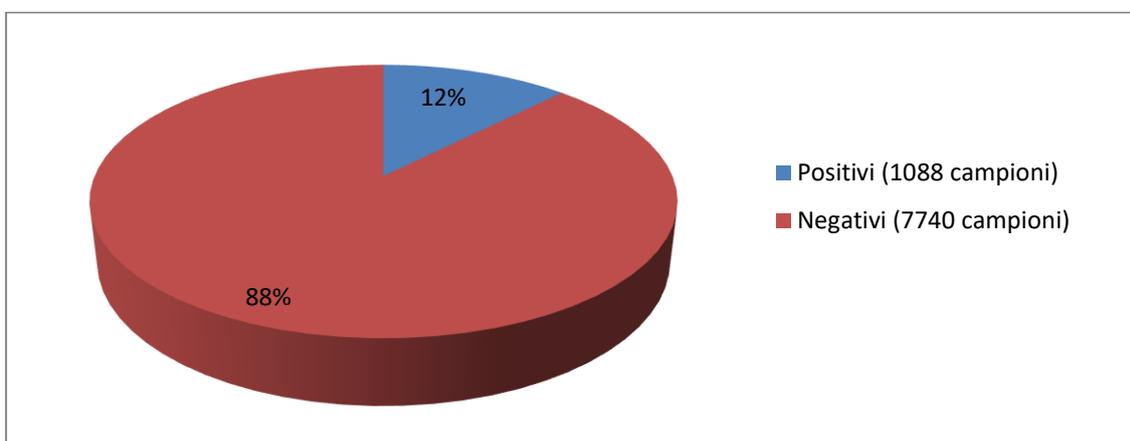


Figura 3.1.2.1- Prevalenza di *Listeria monocytogenes* su insaccato fresco

Per una più completa analisi del risultato, nella Figura 3.1.2.2 viene descritto l'andamento annuale della prevalenza rispetto al dato globale.

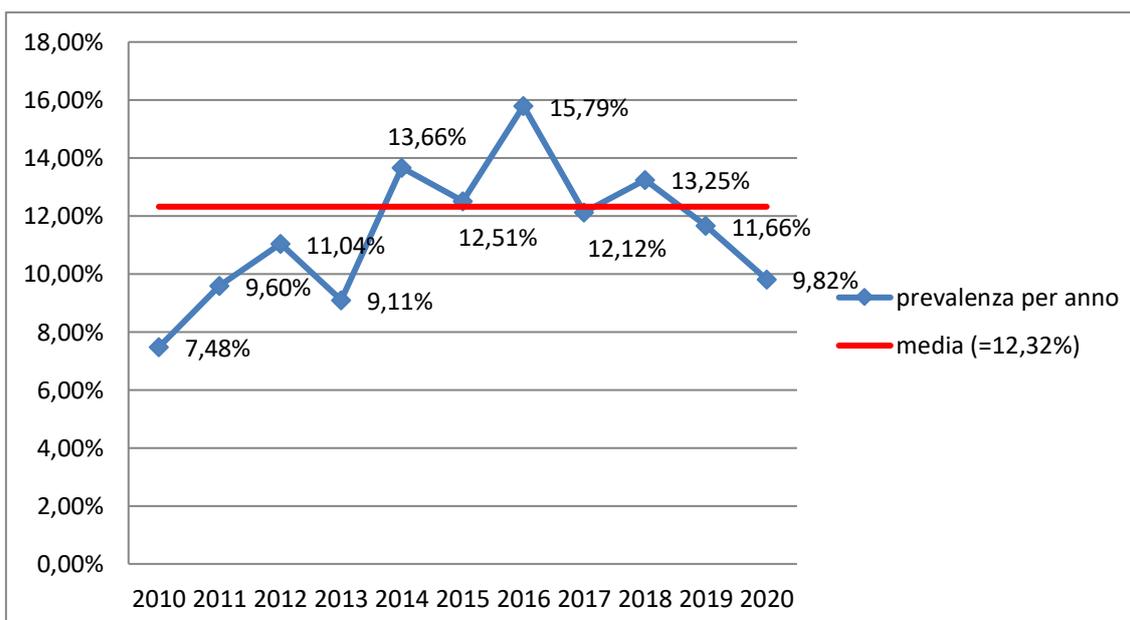


Figura 3.1.2.2- Prevalenza di *Listeria monocytogenes* su insaccato fresco per anno

I campioni risultati positivi sono poi stati valutati in base all'Azienda ULSS di appartenenza. Come già detto in precedenza, il maggior numero di produttori

è presente sul territorio della Azienda ULSS 2 della Marca Trevigiana e da ciò l'elevato numero di positività, come visibile in Figura 3.1.2.3.

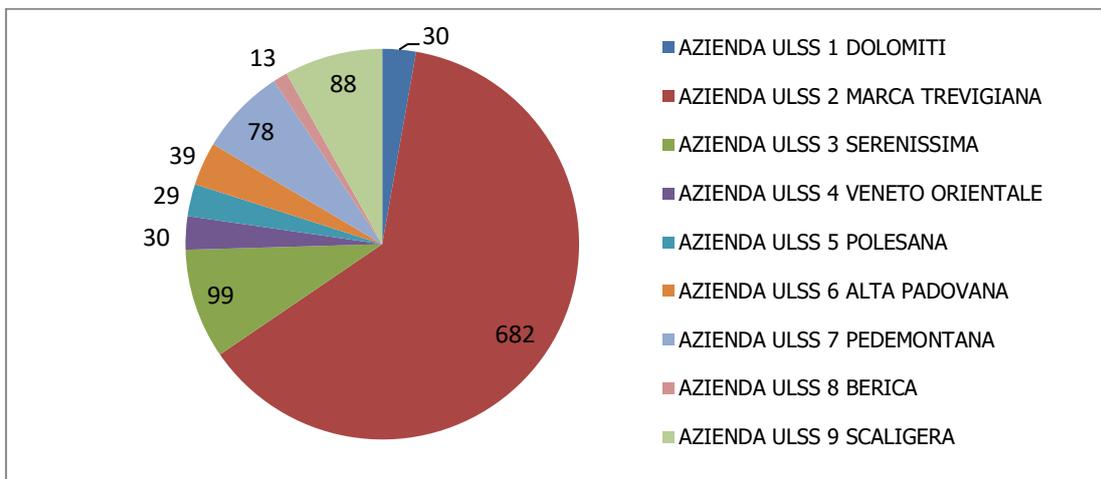


Figura 3.1.2.3- Numero di campioni di insaccato fresco positivi per *Listeria monocytogenes* per Azienda ULSS

Nella Tabella 3.1.2.1 viene riportata la suddivisione dei campioni di impasto fresco positivi per *Listeria monocytogenes* per anno e per AULSS.

AULSS	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Tot.
AULSS 1			1		8	3	2	3	4	3	6	30
AULSS 2	8	18	32	45	78	78	112	90	96	99	26	682
AULSS 3		1	2	7	3	9	16	9	13	28	11	99
AULSS 4				1	2	9	4		5	4	5	30
AULSS 5							2	5	17	4	1	29
AULSS 6			1		1	8	5	9	9	3	3	39
AULSS 7				1	3	5	19	21	9	17	3	78
AULSS 8							1	1	1	9	1	13
AULSS 9			1		2	6	14	13	26	23	3	88
Totale	8	19	37	54	97	118	175	151	180	190	59	1088

Tabella 3.1.2.1- Positività per *Listeria monocytogenes* per AULSS per anno

3.1.3- Prevalenza di *Listeria monocytogenes* su campioni di insaccato stagionato

I campioni di insaccato stagionato, conferiti nel periodo 2010-2020, sono stati in totale 351 e la prevalenza dei campioni positivi è stata del 51,28% (Figura 3.1.3.1).

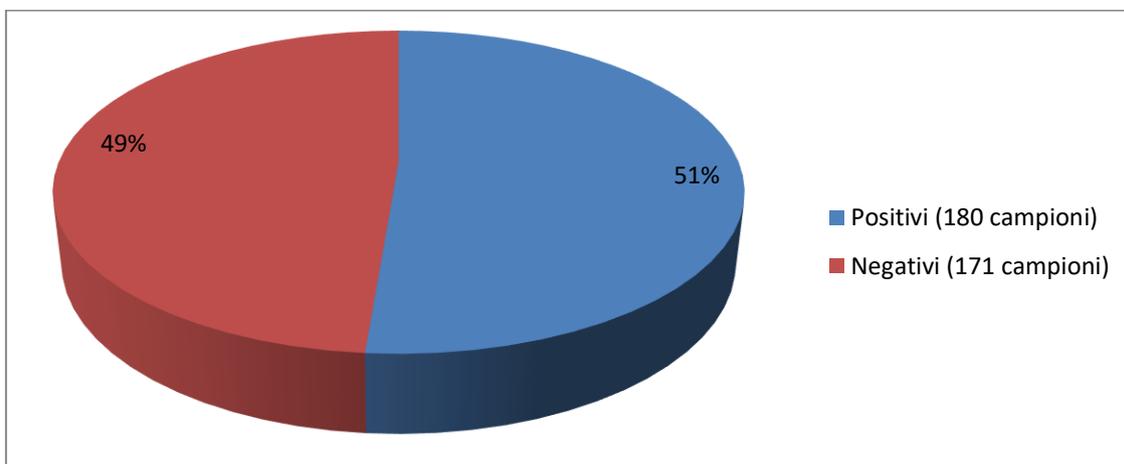


Figura 3.1.3.1- Prevalenza di *Listeria monocytogenes* su insaccato stagionato

La Figura 3.1.3.2 descrive l'andamento della prevalenza per anno, la cui variabilità dipende dal numero di campioni conferiti.

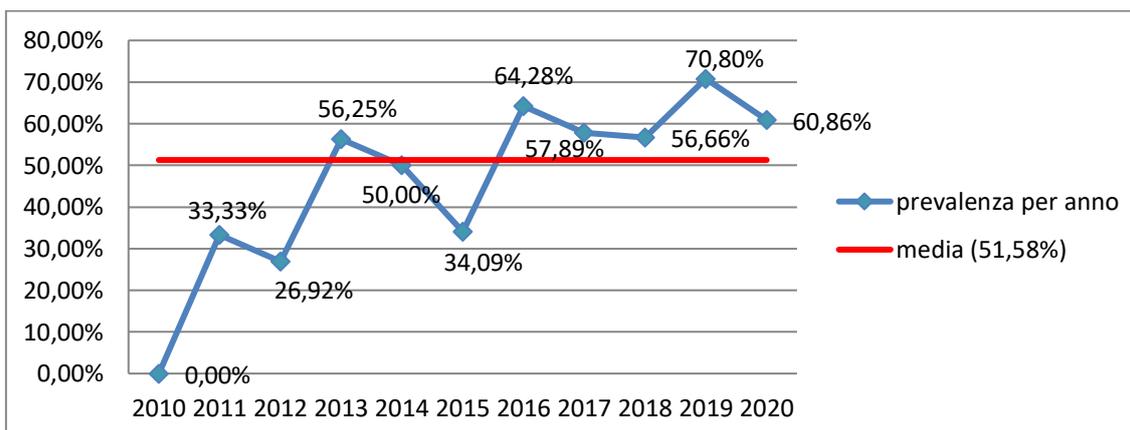


Figura 3.1.3.2- Prevalenza di *Listeria monocytogenes* su insaccato stagionato per anno

In Tabella 3.1.3.1 vengono analizzate le positività per *Listeria monocytogenes* nell'insaccato stagionato per AULSS per anno.

AULSS	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Tot
AULSS 1					6		1					7
AULSS 2		3	14	15	7	10	9	18	7	5	9	97
AULSS 3							1	4		4	3	12
ALUSS 4							3			3		6
ALUSS 5								1	2	3		6
AULSS 6				3		4	2	3	2	3		17
AULSS 7						1		3	5	10	2	21
AULSS 8								1		2		3
AULSS 9					1		2	3	1	4		11
Totale	0	3	14	18	14	15	18	33	17	34	14	180

Tabella 3.1.3.1 – Positività per *Listeria monocytogenes* per AULSS per anno

Per l'insaccato stagionato va fatta un'ulteriore considerazione.

In caso di positività, i lotti di provenienza dei campioni positivi sono stati lasciati stagionare per ulteriore tempo e testati nuovamente, se necessario anche più volte durante la stagionatura. Di conseguenza, i 180 campioni positivi si riferiscono a 128 lotti di prodotto finito. In questo modo è stato valutato il tempo che ha consentito l'abbattimento della carica di *Listeria monocytogenes*, al fine di poter commercializzare gli insaccati.

Per 43 lotti, tale abbattimento non si è verificato in maniera soddisfacente, e tali prodotti non sono stati destinati alla vendita. Per i rimanenti, il tempo medio di stagionatura per abbattere la carica di *Listeria monocytogenes* a un valore inferiore a 10 ufc/g è stato di 136,8 giorni, sia che si trattasse di sopresse che di salami (aventi, a rigore, un tempo di stagionatura minore).

Andando a valutare l' a_w raggiunta a fine stagionatura, si è visto che il 14% dei campioni presentava un valore superiore a 0,92, quindi non compatibile con la commercializzazione, evidenziando la necessità, per il produttore, di andare a rivalutare il processo.

3.2- Risultati per *Salmonella* spp.

3.2.1-Campioni totali

Nel periodo 2010-2020 sono stati conferiti in totale 9057 campioni per la ricerca di *Salmonella* spp. (Tabella 3.2.1).

TIPOLOGIA	N°	percentuale
Campioni di insaccato fresco positivi	117	1,29%
Campioni di insaccato fresco negativi	8703	96,09%
Campioni di insaccato stagionato positivi	48	0,53%
Campioni di insaccato stagionato negativi	189	2,09%
Totale campioni conferiti	9057	100,00%

Tabella 3.2.1- Campioni conferiti per *Salmonella* spp.

Anche in questo caso la ripartizione in percentuale dimostra come i campioni di insaccato stagionato positivi e quindi non idonei al consumo umano siano un'esigua parte sul totale (lo 0,53% sul totale dei campioni conferiti). La ricerca per *Salmonella* spp. è stata eseguita solo qualitativamente, ovvero assenza o presenza del patogeno.

3.2.2-Prevalenza di *Salmonella* spp. su campioni di insaccato fresco

I campioni di insaccato fresco conferiti nel periodo 2010-2020 per la ricerca qualitativa di *Salmonella* spp. sono stati 8820. La prevalenza è stata del 1,33% (Figura 3.2.2.1).

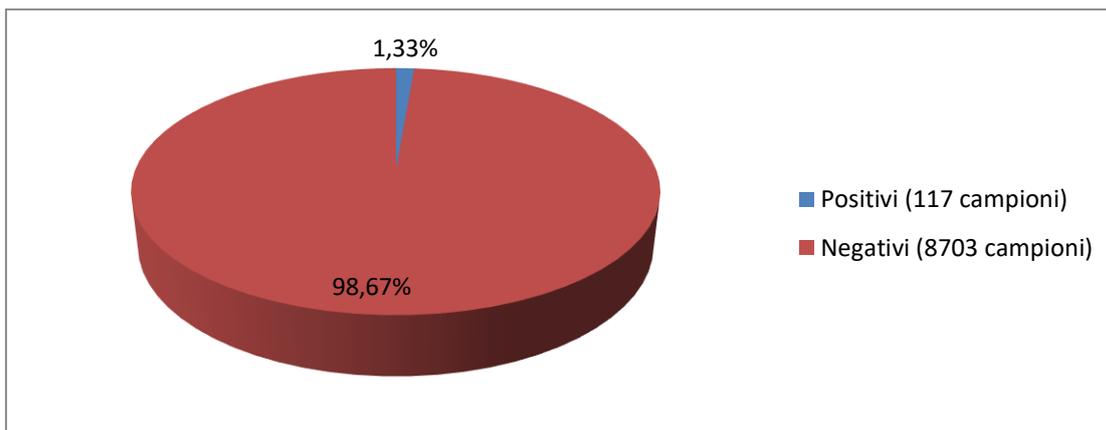


Figura 3.2.2.1- Prevalenza di *Salmonella* spp su insaccato fresco

La Figura 3.2.2.2 riporta l'andamento annuale della prevalenza di *Salmonella* spp. nell'insaccato fresco.

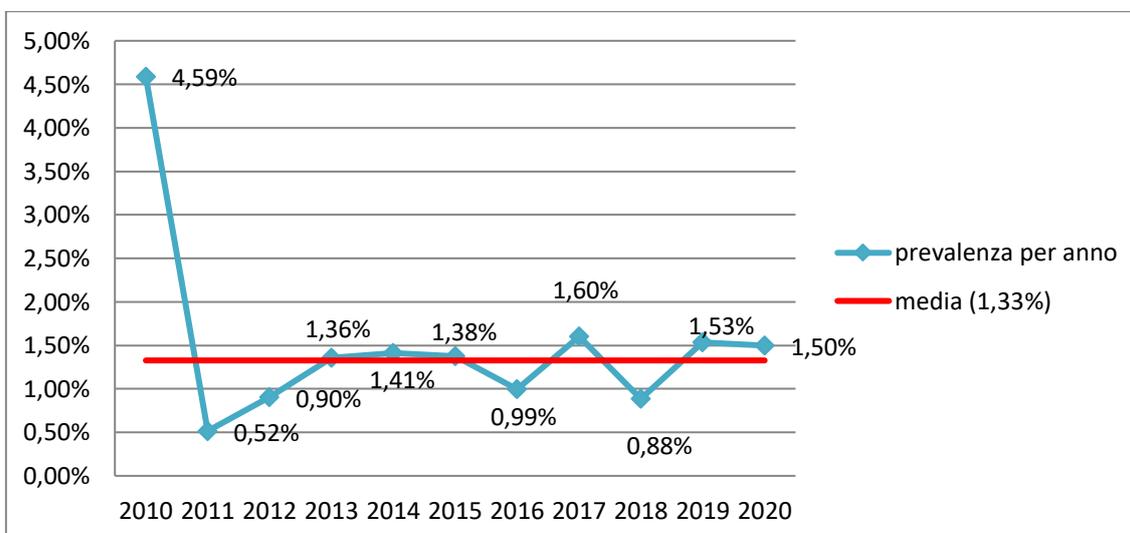


Figura 3.2.2.2- Prevalenza di *Salmonella* spp. su insaccato fresco per anno

Anche per *Salmonella* spp. la ripartizione dei positivi per Azienda ULSS per l'insaccato fresco mostra come l'Azienda ULSS 2 della Marca Trevigiana abbia una maggior prevalenza di campioni positivi, dovuta al conferimento del maggior numero di campioni (Figura 3.2.2.3).

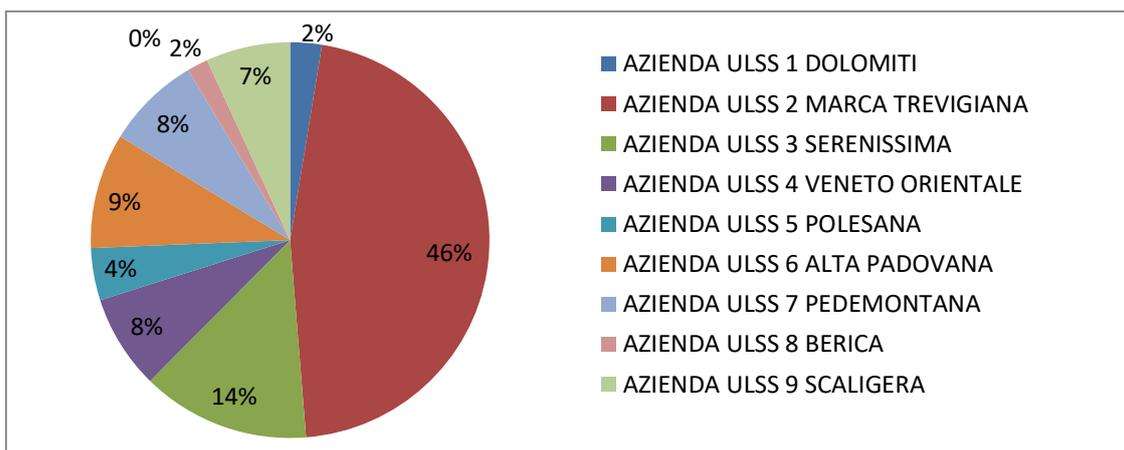


Figura 3.2.2.3- Numero di campioni positivi per *Salmonella* spp. per Azienda ULSS

La Tabella 3.2.2.1 riporta la suddivisione dei campioni di impasto fresco positivi per *Salmonella* spp. per Azienda ULSS per anno.

AULSS	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Tot
AULSS 1								1	1	1		3
AULSS 2	5	1	1	6	6	7	4	9	6	7	2	54
AULSS 3			2	2	1	1	2	1		5	2	16
AULSS 4					2			1		3	3	9
AULSS 5								1	2	2		5
AULSS 6						1		5	1	3	1	11
AULSS 7						3	1	2	2	1		9
AULSS 8							2					2
AULSS 9					1	1	2			3	1	8
Totale	5	1	3	8	10	13	11	20	12	25	9	117

Tabella 3.2.2.1- Ripartizione positività per *Salmonella* spp. per AULSS per anno

3.2.3- Prevalenza di *Salmonella* spp. su campioni di insaccato stagionato

I campioni di insaccato stagionato conferiti nel periodo 2010-2020 sono stati 237 e la prevalenza dei positivi è stata del 20,25%.

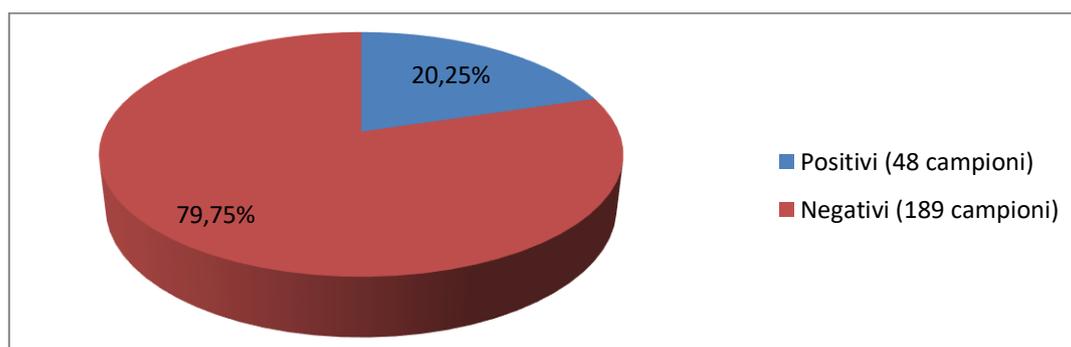


Figura 3.2.3.1- Prevalenza per *Salmonella* spp. su insaccato stagionato

Anche per *Salmonella* spp. la prevalenza è stata valutata per ciascun anno, come da Figura 3.2.3.2; la variabilità accentuata del dato è dovuta al quantitativo di campioni conferiti.

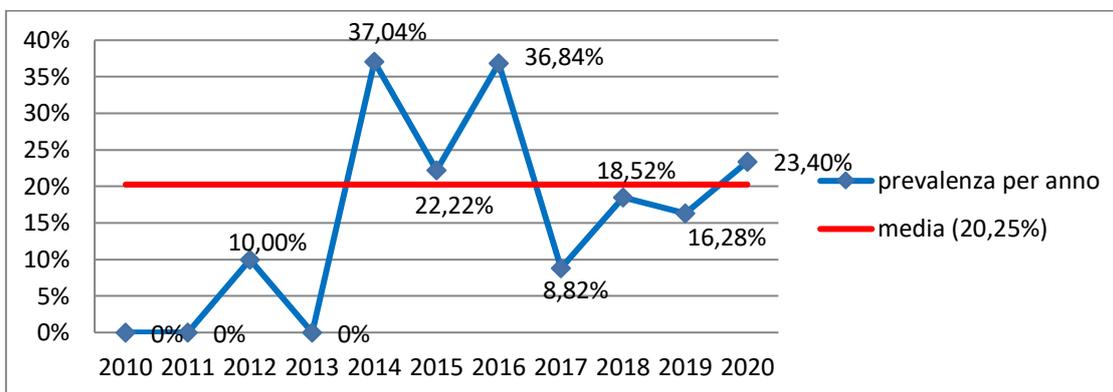


Figura 3.2.3.2- Prevalenza di *Salmonella* spp. su insaccato stagionato per anno

In Tabella 3.2.3.1 sono state evidenziate le ripartizioni delle positività per *Salmonella* spp. per Azienda ULSS per anno.

AULSS	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Tot
AULSS 1										1		1
AULSS 2			1		7	1	3	1	2	3	7	25
AULSS 3					1				2	1		4
AULSS 4					2	3		2			2	9
AULSS 6							3				1	4
AULSS 7									1	2	1	4
AULSS 8												0
AULSS 9							1					1
Totale	0	0	1	0	10	4	7	3	5	7	11	48

Tabella 3.2.3.1- Ripartizione positività per *Salmonella* spp. per AULSS per anno

Come avvenuto per la ricerca di *Listeria monocytogenes*, anche nel caso della valutazione di *Salmonella* spp. per l'insaccato stagionato i campioni positivi spesso sono dovuti a analisi ripetute su uno stesso lotto. Perciò, i 48 campioni positivi afferiscono, in realtà, a 28 lotti. Il periodo medio di stagionatura per abbattere la carica di *Salmonella* spp. in questi prodotti è stato di 87,31 giorni.

Oltre all'analisi qualitativa, per *Salmonella* spp. è stato individuato il sierotipo del ceppo batterico in questione, come espresso in Tabella 3.2.3.2. La tipizzazione di *Salmonella* spp. è stata eseguita sia sui positivi dell'insaccato fre-

sco, che dello stagionato; tuttavia, è stato deciso di inserire in questa trattazione solo l'analisi relativa all'insaccato stagionato, in quanto generalmente il sierotipo si confermava lo stesso nei diversi campioni (impasto fresco e insaccato stagionato).

Sierotipo	2012	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Tot
<i>S. Anatum</i>		1							1
<i>S. Brandenburg</i>		1			1			1	3
<i>S. Bredeney</i>		1	3						4
<i>S. Derby</i>		3	1					1	5
<i>S. enterica subsp. enterica</i>							1	1	2
<i>S. Enteritidis</i>							1		1
<i>S. Goldcoast</i>						2			2
<i>S. Livingstone</i>	1								1
<i>S. London</i>							2	2	4
<i>S. Mbandaka</i>						1			1
<i>S. Rissen</i>				2			1		3
<i>S. Typhimurium</i>					1	1			2
Variante Monofasica di <i>S. Typhimurium</i> - 1,4,[5],12 : i : - :		4		3	1	1	1	1	11
Non tipizzato				2			1	5	8
Totale per anno	1	10	4	7	3	5	7	11	48

Tabella 3.2.3.2 - Tipizzazione *Salmonella* spp. per i campioni positivi di insaccato stagionato

4- Discussione

4.1- *Listeria monocytogenes*

Secondo i dati dell'ultimo report EFSA (EFSA, 2019), nel 2018 la prevalenza di *Listeria monocytogenes* nei prodotti RTE a base di carne suina in Europa è stata del 3.9% dei lotti analizzati in corso di campionamenti ufficiali negli Stati Membri. Un recente studio di Filipello e coll. (2020) ha associato i casi di listeriosi umana del nord Italia alle probabili fonti alimentari, individuando, di fatto, come principale causa di malattia il latte ed i suoi derivati (50% dei casi), seguiti, a pari percentuale, dai prodotti di origine avicola e suina (15% per ciascuna tipologia). In particolare, è stato evidenziato il ruolo dei prodotti RTE come causa di contaminazione crociata, specie a livello domestico.

In bibliografia si trovano dati molto variabili sulla prevalenza di *Listeria monocytogenes* nei prodotti a base di carne suina RTE, a seconda del tipo di insaccato: per Meloni (2015) varia fra il 3,25% ed il 40%, mentre in uno studio di Gianfranceschi e coll. (2006), invece, va dal 1,26% al 58,3%. I risultati ottenuti nell'analisi oggetto di questa tesi rientrano nel *range*, in quanto la positività per l'insaccato stagionato risulta elevata (51% dei campioni analizzati). Come già detto in precedenza, bisogna tener conto delle ripetizioni delle analisi ad un tempo di stagionatura più lungo in caso di positività, per cui, i 180 campioni positivi, di fatto, afferiscono a 128 lotti, perciò la prevalenza scenderebbe al 42,8%. Va considerato che la valutazione della negatività dei campioni è più stringente rispetto ai limiti imposti dal Regolamento CE 2073/2005, che considera positivi i campioni con *Listeria monocytogenes* maggiore di 100 ufc/g. I prodotti PPL vengono considerati negativi solo se la loro carica è inferiore a 10 ufc/g, per garantire una maggior sicurezza al consumatore.

La numerosità dei campioni positivi sul totale va ripartita per tipologia di prodotto: il 12% delle positività riguarda, infatti, l'impasto fresco, prima della stagionatura, mentre per i prodotti stagionati tale positività scende all'1%. Questo dato è in accordo con la bibliografia (De Cesare *et al.*, 2007, Mureddu *et al.*, 2014), ponendo attenzione sull'importanza di un corretto processo di stagiona-

tura per l'abbattimento della potenziale carica iniziale di *Listeria monocytogenes*.

La contaminazione delle carni può avvenire sin dalle materie prime, durante le fasi della macellazione, dove si può rilevare la presenza del patogeno soprattutto a livello tonsillare piuttosto che sulle carni o sui visceri, come segnalato da Hellström e coll. (2010).

Questo dato, se comparato con la presenza di *Listeria monocytogenes* nell'ambiente, a livello di produzione primaria, dimostra la mancata corrispondenza fra la rilevazione del patogeno in allevamento e la sua prevalenza nelle carcasse dei suini al macello (Hellström *et al.*, 2010).

Ciò è in accordo con quanto descritto da Meloni (2015), che sottolinea come si riscontri un aumento della carica del patogeno sul prodotto durante le lavorazioni. Il processo di produzione può rivelarsi poco efficiente nell'abbattimento dell'eventuale carica preesistente, anche con una bassa concentrazione di *Listeria monocytogenes*, a causa di contaminazioni durante la rimozione delle tonsille e del pacchetto viscerale dalla carcassa (Hellström *et al.*, 2010), oppure per il contatto con superfici non adeguatamente disinfettate (Martin *et al.*, 2011).

Diversi lavori presenti in bibliografia hanno evidenziato il ruolo delle aree di lavorazione e dei macchinari utilizzati, quali i tritacarne e le insaccatrici come fonte di contaminazione (Martin *et al.*, 2011, Talon *et al.*, 2007).

È nota, infatti, la capacità di *Listeria monocytogenes* di formare biofilm, nonché la sua resistenza alle procedure di deterzione e disinfezione (Skowron *et al.*, 2018, Fagerlund *et al.*, 2017, Conficoni *et al.*, 2016, Pan *et al.*, 2006), meccanismi che possono rendere inefficaci le buone prassi igieniche (GHP), quali, appunto, le procedure di pulizia e sanificazione. Non meno importante, è il ruolo dell'operatore, perché anch'egli può essere una non trascurabile fonte di contaminazione delle carni, attraverso l'abbigliamento e le calzature, ma anche durante le lavorazioni (Kurpas *et al.*, 2017, Gomez *et al.*, 2015, Lianolu *et al.*, 2007), per mancata igiene nella manipolazione dell'alimento. È quindi necessario che l'operatore PPL osservi e applichi le buone pratiche di allevamento e di

lavorazione costantemente, sin dalle materie prime, onde evitare di iniziare la preparazione dell'impasto fresco con alte cariche di *Listeria monocytogenes*.

Un'altra fase critica della produzione dei salumi è data dall'asciugatura e dalla conseguente stagionatura, che, se non avviata e controllata correttamente, può favorire la crescita di microrganismi patogeni, anziché bloccarla (Figura 4.1 a e b).

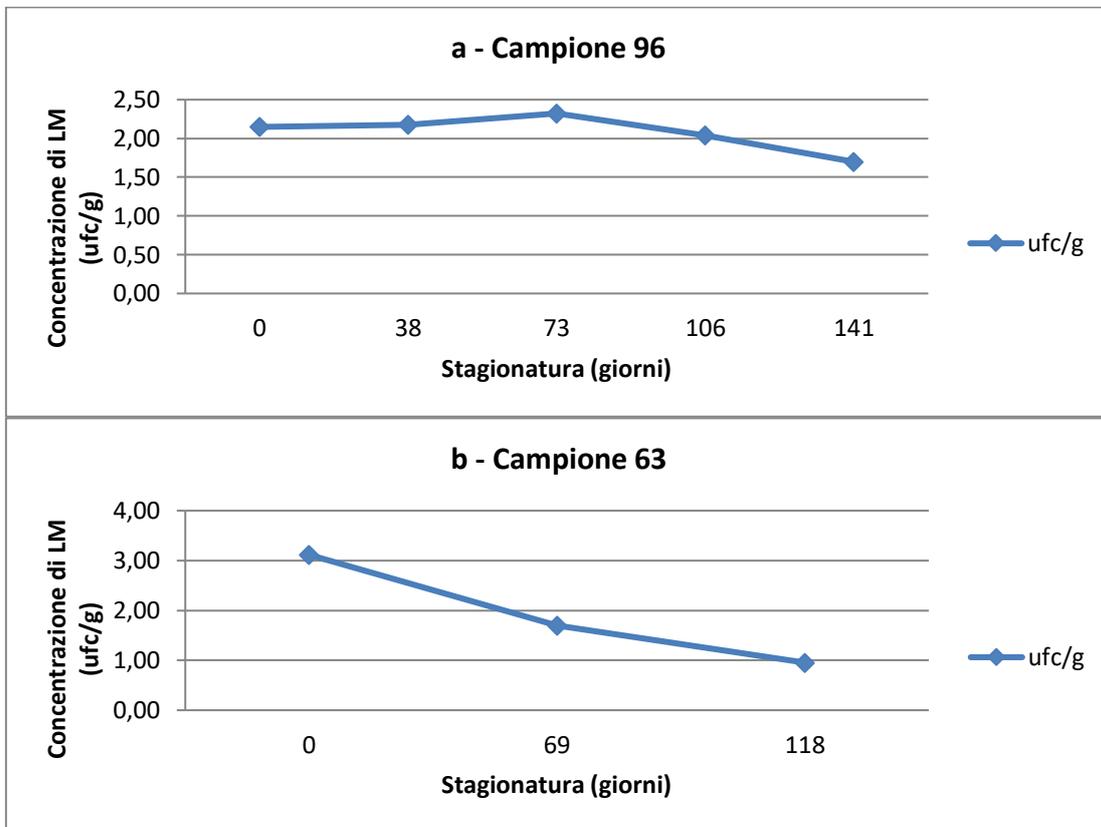


Figura 4.1 - Andamento di *Listeria monocytogenes* (LM) con stagionatura non corretta (a) e corretta (b)

Temperatura e umidità dei locali adibiti a queste fasi, come già detto in precedenza, sono due fattori esterni cruciali per una corretta fermentazione dell'impasto, che vanno monitorati dall'operatore, al fine di ottenere un adeguato abbassamento del pH e della *water activity* e l'abbattimento della carica di *Listeria monocytogenes*, come già analizzato da Mataragas e coll. (2015a). Questo studio non ha tenuto conto di eventuali agenti inibenti quali nitriti/nitrati e acido lattico, come del resto non sono stati ricercati nei prodotti PPL, data la variabilità nelle ricette (originate da consuetudini locali), perciò l'andamento dell'inattivazione è stato valutato solo sulla base della stagionatura. Lo studio ha

evidenziato come l'inattivazione del patogeno avvenga in maniera ottimale col raggiungimento, a fine stagionatura, di valori di pH inferiori a 5.0 e di a_w inferiori a 0.94. Questi valori vengono normalmente raggiunti dai vari prodotti di salumeria della tradizione mediterranea, come descritto in bibliografia (Meloni, 2015). Sono stati effettuati molti studi a riguardo, utilizzando *challenge test* per valutare la sopravvivenza di *Listeria monocytogenes* in diversi tipi di salami (Novelli *et al.*, 2017, Mataragas *et al.*, 2015b).

Bisogna, tuttavia, considerare che detti tipi di salumi vengono prodotti a livello industriale, con metodologie standardizzate, mentre salami e sopresse oggetto di questa tesi vengono prodotti secondo tradizione, con variabilità nella ricetta impiegata e nella tecnologia, perciò, per non incorrere in rischi di tipo microbiologico, il Progetto si è basato sulla definizione di "Alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *Listeria monocytogenes*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali" del Regolamento CE 2073/2005.

I parametri di legge per questo tipo di alimenti prevedono dei valori di pH minori o uguali a 4,4 e di a_w minore o uguale a 0,92, su cui si è basato il Progetto per assicurare la salubrità di detti prodotti destinati al consumatore finale. I campioni analizzati che presentavano un' a_w superiore a 0,92, come detto in precedenza, rappresentano il 14% sul totale nel periodo di analisi e non sono stati destinati alla vendita; di essi, solo una minima percentuale (il 2,34%) ha riportato anche alte cariche di *Listeria monocytogenes* (da 40 ufc/g a 15000 ufc/g).

Oltre che da parametri ambientali, l' a_w del prodotto finale è influenzata anche dal diametro del salume: è stato osservato che essa assume valori vicini a 0,92 nei salumi di grandi dimensioni (Tabanelli *et al.*, 2015). Salami e sopresse tradizionalmente hanno un diametro di medio-grandi dimensioni (circa 6-8 cm per i salami, 10-12 cm per le sopresse, come riportato da Roccato e coll., 2017), che può influenzare sia la perdita d'acqua che concorre al raggiungimento dell' a_w finale che le naturali reazioni enzimatiche e microbiologiche che si sviluppano con la stagionatura, richiedendo un tempo più lungo per ottenere i valori desiderati (Bonilauri *et al.*, 2019). L'operatore PPL deve tener conto di que-

sti parametri tecnologici, oltre a quelli ambientali, al fine di permettere un'adeguata stagionatura del prodotto, perché esso sia idoneo al consumo.

4.2- *Salmonella* spp.

L'ultimo Report EFSA, segnala per il 2018 in Europa il 5,4% di casi di salmonellosi umana dovuti al consumo di carne di maiale e suoi derivati, di cui lo 0,6% da *Salmonella* Enteritidis (EFSA, 2019). Questo dato è in lieve calo rispetto al trend degli anni precedenti (2010-2017), che vedeva in media il 7,1% dei casi attribuibili a carne suina. I dati per l'Italia sono specificati più in dettaglio nel Report Enter-Vet del medesimo anno, dove il suino rappresenta la seconda specie da cui sono stati isolati i diversi ceppi di *Salmonella*, con il 16,5% di campioni. Per quanto riguarda gli alimenti, le carni di origine suina e derivati risultano al secondo posto (dopo le carni avicole) per isolamento dei vari ceppi di *Salmonella*, dove si rinvencono soprattutto, nell'ordine, *S. Derby*, la Variante Monofasica di *S. Typhimurium* e *S. Rissen* (Enter-Vet, 2019).

Alcune analisi dei report italiani degli anni precedenti (Mughini-Gras *et al.*, 2013, Graziani *et al.*, 2013) hanno evidenziato come il suino abbia assunto un ruolo predominante come fonte di salmonellosi umana, dal consumo di carni e prodotti a base di carne suina, e come ci siano state oscillazioni sulla prevalenza dei suddetti ceppi, con un aumento significativo dei rinvenimenti di *Salmonella* Derby, mentre *Salmonella* Enteritidis ha subito una diminuzione. Essendo *Salmonella* Enteritidis uno dei ceppi prevalenti soprattutto nella specie avicola, questa decrescita avvenuta negli anni è attribuibile alle pratiche di management sanitario a livello di produzione primaria, affinate nel periodo oggetto della valutazione, mentre l'aumento di *S. Derby* nello stesso periodo ha dimostrato come ci sia necessità di un miglioramento delle medesime nel campo della suinicoltura.

Il ruolo dell'allevamento suino come possibile fonte di salmonellosi nell'uomo è sempre stato oggetto di studio. È stato dimostrato che vi sono delle differenze fra la prevalenza di *Salmonella* spp. in allevamento e in fase di macellazione, dovuta alla presenza, *in vivo*, di soggetti portatori asintomatici, alla

tipologia di mangime somministrato (al suo pH e al diametro delle particelle) e al management aziendale (allevamento continuo o *all in/all out*), per cui, spesso, la rilevazione del patogeno sugli animali vivi risulta sottostimata (Bonardi, 2017a). Al macello la prevalenza di *Salmonella* spp tende a essere più elevata (Bonardi, 2017b) e si è vista l'importanza delle stalle di sosta come fonte di contaminazione crociata delle carcasse dopo la macellazione, a causa del tempo di riposo dei suini che, se prolungato, può favorire la diffusione del patogeno (Bonardi *et al.*, 2016, Hurd *et al.*, 2001).

Sono noti da tempo i punti critici per la disseminazione del patogeno sulle carni, durante le prime lavorazioni (quali la scottatura e la depilazione), nonché il rischio di contaminazione fecale delle carcasse con l'eviscerazione (Giaccone *et al.*, 2015, De Busser *et al.*, 2011).

Da tutte le considerazioni sopra descritte si evince come sia di estrema importanza per il produttore PPL prestare attenzione alle pratiche di allevamento dei suini scelti per la produzione di salumi con metodiche più tradizionali, onde evitare il rischio di iniziare le lavorazioni con alte cariche di *Salmonella* spp. preesistenti sulle carni. Questa considerazione viene confermata dai risultati sulla prevalenza di *Salmonella* spp. nell'impasto fresco (1,33%), molto minore rispetto a quella ottenuta da Bonardi e coll. (2017b) in uno studio sui salami stagionati italiani, del 14%. Il dato ottenuto dai campioni PPL analizzati nel periodo in oggetto dimostra come i produttori siano stati sensibilizzati adeguatamente sull'attenzione per le materie prime e la loro manipolazione. Nel medesimo lavoro di Bonardi e coll. (2017b), la prevalenza nell'insaccato stagionato è stata dell'11%, lievemente inferiore a quello dei prodotti PPL, che, valutando i lotti e non i singoli campioni sarebbe del 14,8%; secondo lo studio, con una stagionatura di 28-48 giorni più lunga del periodo standard (di 28-38 giorni in genere), tale prevalenza scenderebbe al 3,3%, dato che si discosta dai lotti positivi del Progetto, che, pur con dei tempi più lunghi rispetto agli standard (il tempo medio è di 87 giorni), non hanno subito un abbattimento della carica.

Come per *Listeria monocytogenes*, la stagionatura ha un ruolo essenziale per assicurare un prodotto salubre al consumatore finale, in quanto un processo corretto permette di abbattere la carica di *Salmonella* spp..

Molti studi (Mataragas *et al.*, 2015c, Dalzini *et al.*, 2015, Martin *et al.*, 2011) hanno dimostrato come *Salmonella* sia inattivata dalla stagionatura del prodotto, più facilmente rispetto a *Listeria monocytogenes*.

Se nel prodotto finale quest'ultima viene spesso rinvenuta, più difficilmente si individua *Salmonella* spp., a riprova del fatto che i batteri Gram negativi sono più suscettibili ad un corretto processo di stagionatura rispetto ai Gram positivi (Mataragas *et al.*, 2015c). I fattori determinanti questo abbattimento sono l'abbassamento dell' a_w e la durata della stagionatura (Bonilauri *et al.*, 2019, Bonardi *et al.*, 2017b): questi due fattori sono fra loro connessi, come già visto trattando i risultati ottenuti per *Listeria monocytogenes*, nonché dipendenti dal diametro del salume. L'inattivazione di *Salmonella* spp. è, tuttavia, maggiore rispetto a ciò che avviene per *Listeria monocytogenes*, poiché già dai primi giorni di stagionatura si assiste ad una sostanziale diminuzione della sua carica, anche di 1,5 unità logaritmiche (Dalzini *et al.*, 2015, Mataragas *et al.*, 2015c).

Andando a valutare l' a_w dei lotti PPL positivi a fine stagionatura, il 50% di essi ha presentato un a_w maggiore o uguale a 0,92. Ciò è in accordo con i dati presenti in letteratura, in quanto il valore *target* per una stagionatura adeguata al fine di non individuare il patogeno nel prodotto finale è mediamente inferiore a 0,92 secondo Piras e coll. (2019), mentre secondo altri studi è efficace a valori di a_w minori o uguali a 0,90 (Mataragas *et al.*, 2015b).

Come già detto per *Listeria monocytogenes*, è necessario che la stagionatura sia controllata, al fine di rientrare nei corretti parametri e rendere, quindi, il salume poco favorevole alla crescita di patogeni: essa rappresenta un vero e proprio punto critico di controllo per la produzione dei salumi PPL.

5-Conclusioni

Il concetto di “prodotto tradizionale” è, per definizione, universalmente legato alla cultura e alla storia di un dato territorio e si distingue per l’idea positiva che ne ha il consumatore, di un alimento avente una più alta caratterizzazione in termini di percezione sensoriale, un alto valore nutrizionale e una maggior qualità; nei consumatori italiani è di particolare rilievo l’aspetto socio-economico di questa tipologia di produzione, vista come un valido supporto all’economia locale (Almli *et al.*, 2011). Con riferimento alle carni e ai prodotti a base di carne suina, Kallas e coll. (2017) hanno evidenziato come nel nostro Paese questi aspetti siano fortemente radicati, sebbene vi sia, in generale, un’idea di minor sicurezza alimentare rispetto ad altri Stati Europei.

Il forte interesse dimostrato per il Progetto Piccole Produzioni Locali sia dai produttori che dai consumatori è stato confermato negli anni dalla loro crescente adesione.

Con la standardizzazione di procedure operative semplificate (i manuali di buone prassi igieniche) ed il miglioramento della comunicazione e delle istruzioni per gli operatori che sono state via via implementate, il Progetto PPL rappresenta una vera e propria risorsa locale, atta a preservare quelle produzioni tradizionali più comminute che non rientrano nei Regolamenti Comunitari.

Grazie ad esso è stato possibile garantire da un lato il supporto agli operatori, dall’altro la tutela del consumatore, producendo alimenti che rispettano i requisiti di sicurezza indicati dalla normativa e possono, pertanto, essere definiti salubri.

A conferma di questo concetto, l’analisi effettuata sulla prevalenza dei patogeni *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. nei prodotti a base di carne, oggetto di questa tesi, ha evidenziato come tali salumi siano conformi e sicuri, con dei risultati del tutto assimilabili a quelli dei sistemi industriali.

In conclusione, quindi, grazie al Progetto è possibile assicurare una produzione nel rispetto delle tradizioni locali e della sicurezza alimentare.

Bibliografia

Almli, V. L., Verbeke, W., Vanhonacker, F., Næs, T., & Hersleth, M. (2011). General image and attribute perceptions of traditional food in six European countries. *Food Quality and Preference*, 22(1), 129-138.

Bonardi, S. (2017a). *Salmonella* in the pork production chain and its impact on human health in the European Union. *Epidemiology & Infection*, 145(8), 1513-1526.

Bonardi, S., Bruini, I., Bolzoni, L., Cozzolino, P., Pierantoni, M., Brindani, F., ... & Pongolini, S. (2017b). Assessment of *Salmonella* survival in dry-cured Italian salami. *International journal of food microbiology*, 262, 99-106.

Bonardi, S., Alpighiani, I., Bruini, I., Barilli, E., Brindani, F., Morganti, M., ... & Pongolini, S. (2016). Detection of *Salmonella enterica* in pigs at slaughter and comparison with human isolates in Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 218, 44-50.

Bonilauri, P., Grisenti, M. S., Daminelli, P., Merialdi, G., Ramini, M., Bardasi, L., ... & Giacometti, F. (2019). Reduction of *Salmonella* spp. populations in Italian salami during production process and high pressure processing treatment: Validation of processes to export to the US. *Meat science*, 157, 107869.

Centro di referenza nazionale per la salmonellosi, Enter-Vet Report 2018.

Conferenza Stato-Regioni n. 212 del 10.11.2016: Intesa, ai sensi dell'articolo 8, comma 6, della legge 5 giugno 2003, n. 131, tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul documento concernente "Linee guida per il controllo ufficiale ai sensi dei Regolamenti (CE) 882/2004 e 854/2004".

Conficoni D., Losasso C., Cortini E., Di Cesare A., Cibin V., Giaccone V., Corno G. and Ricci A.(2016). Resistance to Biocides in *Listeria monocytogenes* Collected in Meat-Processing Environments. *Front. Microbiol.* 7:1627.

Dalzini, E., Cosciani-Cunico, E., Bernini, V., Bertasi, B., Losio, M. N., Daminelli, P., & Varisco, G. (2015). Behaviour of *Escherichia coli* O157 (VTEC), *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* during the manufacture, ripening and shelf life of low fat salami. *Food Control*, 47, 306-311.

De Busser, E. V., Maes, D., Houf, K., Dewulf, J., Imberechts, H., Bertrand, S., & De Zutter, L. (2011). Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses. *International journal of food microbiology*, 145(1), 279-286.

De Cesare, A., Mioni, R., & Manfreda, G. (2007). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in fresh and fermented Italian sausages and ribotyping of con-

taminating strains. *International journal of food microbiology*, 120(1-2), 124-130.

Decreto Legislativo 30 aprile 1998, n. 173, "Disposizioni in materia di contenimento dei costi di produzione e per il rafforzamento strutturale delle imprese agricole, a norma dell'articolo 55, commi 14 e 15, della legge 27 dicembre 1997, n. 449". (pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 129 del 5 giugno 1998)

Decreto Ministeriale 8 settembre 1999, n. 350. Regolamento recante norme per l'individuazione dei prodotti tradizionali di cui all'articolo 8, comma 1, del D.Lgs. 30 aprile 1998, n. 173. (Pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 240 del 12 ottobre 1999)

Deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 2016 del 3 luglio 2007, "Applicazione regolamenti n. 852, 853, 854 e 882/2004, e successive modifiche e integrazioni, per piccole realtà produttive".

Deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 1892 del 8 luglio 2008, "Lavorazione, preparazione e vendita di carni avicunicole fresche e suine trasformate presso i produttori primari: protocollo sperimentale".

Deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 2560 del 16 settembre 2008, "Indicazioni sull'applicazione del Regolamento (CE) 2075/2005 e successive modifiche ed integrazioni".

Deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 2280 del 28 settembre 2010, "Produzione, lavorazione e vendita di carni avicunicole, carni trasformate, confetture, marmellate, succhi di frutta, sciroppi, sottaceti, farine, conserve vegetali e funghi e vegetali essiccati".

Deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 1526 del 31 luglio 2012, "Piccole Produzioni Locali: il paniere e le regole che ne definiscono la produzione e la commercializzazione".

Deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 1070 del 11 agosto 2015, "Piccole Produzioni Locali venete –PPL: aggiornamento del paniere dei prodotti alimentari; regolamentazione della produzione e della commercializzazione".

Deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 2162 del 29 dicembre 2017, "Progetto "Piccole Produzioni Locali - PPL venete": aggiornamento del paniere definito dalla DGR n. 1070/2015 e revoca di quest'ultima".

Deliberazione della Giunta Regionale del Veneto n. 1248 del 01 settembre 2020, "Progetto "Piccole Produzioni Locali - PPL Venete": riordino della disciplina regionale relativa al progetto. Modifica della D.G.R. n. 2162/2017".

EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control) (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 2019; 17(12):5926, 276 pp.

Fagerlund A., Møretrø T., Heir E., Briandet R., Langsrud S. (2017). Cleaning and disinfection of biofilms composed of *Listeria monocytogenes* and background microbiota from meat processing surfaces. *Appl Environ Microbiol* 83:e01046-17.

Filipello, V., Mughini-Gras, L., Gallina, S., Vitale, N., Mannelli, A., Pontello, M., ... & Lomonaco, S. (2020). Attribution of *Listeria monocytogenes* human infections to food and animal sources in Northern Italy. *Food Microbiology*, 89, 103433.

Giaccone V., Colavita G. (2015). Principi di microecologia degli alimenti. *Edizioni Point Vétérinaire Italie*.

Graziani, C., Mughini-Gras, L., Owczarek, S., Dionisi, A. M., Luzzi, I., & Busani, L. (2013). Distribution of *Salmonella enterica* isolates from human cases in Italy, 1980 to 2011. *Eurosurveillance*, 18(27), 20519.

Gianfranceschi M., Gattuso A., Fiore A., D'Ottavio M.C., Casale M., Palumbo A., Aureli P.(2006). Survival of *Listeria monocytogenes* in uncooked Italian dry sausage (salami). *J Food Prot.* 2006 Jul;69(7):1533-8.

Gómez, D., Iguácel, L. P., Rota, M., Carramiñana, J. J., Ariño, A., & Yangüela, J. (2015). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products and meat processing plants in Spain. *Foods*, 4(3), 271-282.

Hellström, S., Laukkanen, R., Siekkinen, K. M., Ranta, J., Maijala, R., & Korkeala, H. (2010). *Listeria monocytogenes* contamination in pork can originate from farms. *Journal of food protection*, 73(4), 641-648.

Hurd, H. S., Gailey, J. K., McKean, J. D., & Rostagno, M. H. (2001). Rapid infection in market-weight swine following exposure to a *Salmonella Typhimurium*-contaminated environment. *American journal of veterinary research*, 62(8), 1194-1197.

Kallas, Z., Čandek-Potokar, M., Tomažin, U., Pugliese, C., Aquilani, C., & Gil, J. M. (2017). Measuring consumers' preferences for traditional and innovative pork products. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 82(2), 137-141.

Kurpas, M., Wiczorek, K., & Osek, J. (2018). Ready-to-eat meat products as a source of *Listeria monocytogenes*. *Journal of veterinary research*, 62(1), 49-55.

Legge 8 novembre 1991, n. 381, disciplina delle cooperative sociali. (pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* n. 283 del 03/12/1991)

Lianou, A., & Sofos, J. N. (2007). A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. *Journal of food protection*, 70(9), 2172-2198.

Martin, B., Garriga, M., & Aymerich, T. (2011). Prevalence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* at small-scale Spanish factories producing traditional fermented sausages. *Journal of food protection*, 74(5), 812-815.

Mataragas, M., Rantsiou, K., Alessandria, V., & Cocolin, L. (2015a). Estimating the non-thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in fermented sausages relative to temperature, pH and water activity. *Meat science*, 100, 171-178.

Mataragas, M., Bellio, A., Rovetto, F., Astegiano, S., Decastelli, L., & Cocolin, L. (2015b). Risk-based control of food-borne pathogens *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in the Italian fermented sausages Cacciatore and Felino. *Meat Science*, 103, 39-45.

Mataragas, M., Bellio, A., Rovetto, F., Astegiano, S., Greci, C., Hertel, C., ... & Cocolin, L. (2015c). Quantification of persistence of the food-borne pathogens *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* during manufacture of Italian fermented sausages. *Food control*, 47, 552-559.

Meloni, D., (2015). Presence of *Listeria monocytogenes* in Mediterranean-Style Dry Fermented Sausages. *Foods*, 2015, 4, 34-50.

Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, Decreto 14 ottobre 2013 recante disposizioni nazionali per l'attuazione Reg. (UE) 1151/2012 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 Novembre 2012 sui regimi di qualità dei prodotti agricoli alimentari in materia di DOP, IGP e STG. (Pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 251 del 25/10/2013)

Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, Ventesima revisione dell'elenco dei prodotti agroalimentari tradizionali, aggiornamento ai sensi dell'articolo 12, comma 1 della legge 12 dicembre 2016, n. 238. (pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 42 del 20/02/2020)

Mughini-Gras, L., Barrucci, F., Smid, J. H., Graziani, C., Luzzi, I., Ricci, A., ... & Busani, L. (2014). Attribution of human *Salmonella* infections to animal and food sources in Italy (2002–2010): adaptations of the Dutch and modified Hald source attribution models. *Epidemiology & Infection*, 142(5), 1070-1082.

Mureddu, A., Mazza, R., Fois, F., Meloni, D., Bacciu, R., Piras, F., & Mazzette, R., (2014). *Listeria monocytogenes* persistence in ready-to-eat sausages and in processing plants. *Italian journal of food safety*, 3(1).

Novelli, E., Dal Santo, L., Balzan, S., Cardazzo, B., Spolaor, D., Lombardi, A., ... & Fasolato, L. (2017). Analysis of process factors of dry fermented salami to control *Listeria monocytogenes*. *Italian journal of food safety*, 6(1).

Pan, Y., Breidt, F., & Kathariou, S. (2006). Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms to sanitizing agents in a simulated food processing environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7711-7717.

Piras, F., Spanu, C., Mocchi, A. M., Demontis, M., De Santis, E. P. L., & Scarano, C. (2019). Occurrence and traceability of *Salmonella* spp. in five Sardinian fermented sausage facilities. *Italian journal of food safety*, 8(1).

Regolamento (CE) n. 852/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 sull'igiene dei prodotti alimentari

Regolamento (CE) n. 2073/2005 della Commissione del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari

Roccatò, A., Uyttendaele, M., Barrucci, F., Cibin, V., Favretti, M., Cereser, A., ... & Ramon, E. (2017). Artisanal Italian salami and soppresses: Identification of control strategies to manage microbiological hazards. *Food microbiology*, 61, 5.

SANCO/1955/2005 Rev. 3

SANCO/10098/2009 Rev. 2/2014

Skowron, K., Hulisz, K., Gryń, G., Olszewska, H., Wiktorczyk, N., & Paluszak, Z. (2018). Comparison of selected disinfectants efficiency against *Listeria monocytogenes* biofilm formed on various surfaces. *International Microbiology*, 21(1-2), 23-33.

Tabanelli, G., Bargossi, E., Gardini, A., Lanciotti, R., Magnani, R., Gardini, F., & Montanari, C. (2016). Physico-chemical and microbiological characterisation of Italian fermented sausages in relation to their size. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(8), 2773-2781.

Talon, R., Lebert, I., Lebert, A., Leroy, S., Garriga, M., Aymerich, T., ... & Patarata, L. (2007). Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1: Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Science*, 77(4), 570-579.

Webgrafia

www.pplveneto.it

