

2. VALUTAZIONE DEL LIVELLO DI PREVALENZA DA UN AGENTE PATOGENO IN UN PRODOTTO ALIMENTARE

2.1 Selezione del prodotto alimentare e definizione del piano di campionamento

Il prosciutto crudo stagionato venduto presso i punti vendita come prodotto affettato, in vaschetta e in atmosfera protettiva è stata la matrice alimentare selezionata per questa indagine. Per il piano di campionamento è stato definito di prelevare 300 campioni di prosciutto crudo affettato confezionato presso i punti vendita della grande distribuzione presenti nel territorio dell'Emilia-Romagna.

I campioni sono stati suddivisi tra le diverse province sulla base dei dati del censimento ISTAT 2001 relativi alla popolazione residente in famiglia in Emilia-Romagna (Tab. 1).

Tabella 1. Popolazione residente in Emilia-Romagna (dettaglio provinciale) - Censimento ISTAT 2001.

Province	Popolazione residente	% popolazione residente	N. campioni
Bologna	906716	23,0	69
Ferrara	341429	8,6	26
Forlì-Cesena	355818	9,0	27
Modena	630140	15,9	48
Parma	389269	9,9	30
Piacenza	261325	6,6	20
Ravenna	344854	8,7	26
Reggio-Emilia	450835	11,4	34
Rimini	270338	6,8	21
Parma	3.950.724	100,0	301

Il numero di campioni, calcolato per provincia, è stato poi distribuito sulla base del numero di punti vendita presenti nella provincia stessa. E' stato, quindi, stabilito di prelevare, per ogni provincia, una prima serie di campioni da tutti i supermercati (tranne Parma e Rimini) (Tab. 2) e successivamente un ulteriore campione presso una selezione di punti vendita estratti, per provincia (tranne Ferrara), in modo casuale (Tab. 2).

Tabella 2: Distribuzione dei campioni da prelevare per provincia

Provincia	n. punti vendita	n. campioni
Bologna	42	28
Forlì-Cesena	21	6
Ferrara	27	1
Modena	14	9
Piacenza	23	8
Parma	27	20
Ravenna	6	6
Parma	18	17

Rimini	28	21
Totale	206	104

Per quelle province per le quali era stato stabilito di prelevare più confezioni dallo stesso punto vendita è stato fatto passare più tempo possibile tra un prelievo e il successivo in modo da ridurre la probabilità di prelevare lo stesso lotto di prodotto.

Sulla base dei dati SEAT disponibili è stato redatto un elenco degli esercizi commerciali dove eseguire i prelievi. Nel corso delle attività di campionamento l'elenco dei punti vendita è stato periodicamente aggiornato in seguito al riscontro di alcuni punti vendita non più aperti o che non vendevano generi alimentari. Sono stati, inoltre, eliminati i punti vendita che non vendevano il tipo prodotto da campionare. La selezione dei supermercati è stata comunque necessaria anche per definire il numero di campioni da prelevare per completare il campionamento.

E' stata predisposta una scheda (vedi allegato scheda di prelievo) per la raccolta delle informazioni riguardanti il campione e un'istruzione operativa per il confezionamento, identificazione e invio dei campioni ai laboratori di analisi che avrebbero eseguito le prove previste (vedi allegato 2 istruzioni operative).

2.2 Determinazione dei livelli di contaminazione del prodotto alimentare

Al momento del ricevimento presso il laboratorio, i campioni sono stati sottoposti a verifica della temperatura di trasporto, dell'identificazione e trascrizione dei dati identificativi dei prodotti da esaminare.

Sono state prelevate, in condizioni di sterilità, le quantità necessarie per eseguire le seguenti determinazioni: 25 g per ricerca e numerazione di Salmonella sp (ISO 6579:2002) (RIF), 25 g per ricerca e numerazione di Listeria monocytogenes (ISO 11290:2006 parte 1 e 2) (RIF), 10 g per la determinazione dell'acqua libera con metodo del punto di rugiada (ISO 21807: 2004) e 10 g per il pH con metodo potenziometrico.

La parte restante del campione è stata confezionata e conservata fino a conclusione delle prove previste.

Il ceppo di Listeria monocytogenes isolato è stato identificato sierologicamente mediante agglutinazione rapida con sieri polivalenti (Denko, Giappone) secondo (RIF; RIF)

E' stata anche eseguito l'antibiogramma mediante il metodo della disco diffusione su agar o Kirby-Bauer secondo le modalità di esecuzione e di interpretazione degli aloni di inibizione descritte dal National Committee Clinical Laboratory Standard (NCCLS) (RIF). Le prove sono state eseguite testando i ceppi con un panel di antibiotici (Beckton-Dickinson, USA) tra quelli più rappresentativi. Le molecole testate e le relative concentrazioni sono riportate in tabella 1.

Tabella 1: Panel di antibiotici utilizzati per l'antibiogramma per Listeria monocytogenes

Antibiotico	Sigla	Concentrazione d'uso (in microgrammi)
Amoxicillina e Acido clavulanico	AMC	20/10
Cefalotina	CF	30
Clindamicina	CC	2
Cloranfenicolo	CL	30
Enrofloxacin	ENO	5
Gentamicina	GM	10
Kanamicina	K	30

Lincomicina	L	2
Oxacillina	OX	1
Penicillina	P	10 *
Streptomicina	S	10
Sulfisoxazolo	G	250
Tetraciclina	TE	30
Trimethoprim e Sulfametossazolo	SXT	1,25/23,75
Vancomicina	VA	30

*: espresso in Unità internazionali

2.3 Prelievo dei campioni

Nel periodo 21 giugno – 21 novembre 2006 sono stati prelevati 298 campioni di prosciutto crudo stagionato affettato in vaschetta di plastica contenenti porzioni con interfoglio steso o impilato, o a fetta “mossa” (quando la fetta è appoggiata nel contenitore e non perfettamente stesa).

Il primo tipo di prodotto deriva dall'affettamento del prosciutto crudo stagionato disossato sottoposto a pressatura in uno stampo (a “mattonella”) che fornisce un prodotto estremamente regolare nelle dimensioni e in grado di dare fette sempre uguali.

Il secondo tipo di prodotto deriva, invece, da prosciutto sottoposto solo a disosso e privato completamente della cotenna (pelatello). La distribuzione dei campioni prelevati per provincia è riportata in tabella 2.

Tabella 2. Distribuzione dei campioni prelevati per provincia

Province	N. campioni
Bologna	86
Ferrara	33
Forlì-Cesena	28
Modena	48
Parma	22
Piacenza	18
Ravenna	9
Reggio-Emilia	41
Rimini	11
San Marino	2
Totale	298

Il campionamento ha interessato complessivamente 12 stabilimenti appartenenti al consorzio del prosciutto crudo di Parma.

2.4 Analisi microbiologiche e chimico-fisiche

E' stata rilevata la presenza di *Listeria monocytogenes* in 1 solo caso , con un livello di contaminazione compreso tra 0,04 e 10 UFC/g mentre tutti i campioni sono risultati negativi per *Salmonella* spp.

Il ceppo isolato è stato identificato come 1/2b ed ha presentato il profilo CcLOx come pattern di resistenza.

Per quanto riguarda la determinazione del pH il valore medio rilevato è stato di 5,89 (limite inferiore IC della media: 5,88; limite superiore IC della media: 5,91; $p=0,95$) mentre per l'aw il valore medio rilevato è stato di 0,910 (limite inferiore IC della media: 0,909; limite superiore IC della media: 0,912; $p=0,95$).

Le confezioni prelevate avevano un peso medio di 103 g (dev. stand.= 20; $p=0,95$) ed il 59.2% delle confezioni prelevate hanno un peso compreso tra 100 e 144 g mentre il 40.8% ha un peso compreso tra 54 e 100 g.

I dati relativi al valore di pH e Aw sono stati esaminati anche in relazione allo stabilimento di produzione e i dati di variabilità rilevati sono riportati rispettivamente nel grafico 1 e 2.

Grafico 1. Variabilità del valore di pH rilevato nei prodotti provenienti dallo stesso stabilimento

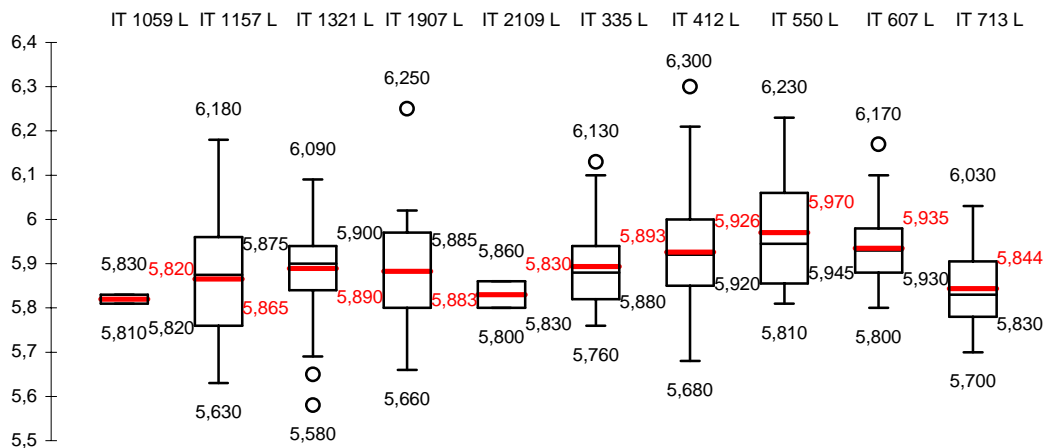


Grafico 2. Variabilità del valore di acqua libera rilevato nei prodotti provenienti dallo stesso stabilimento

