Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Produzioni Animali Sostenibili LM-86

UD-1

Insegnamento in: ***SANITA' E SICUREZZA DEI PRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE OTTENUTI DA TECNOLOGIE INNOVATIVE E SOSTENIBILI***

SSD: VET/04; 6 CFU (60 ore)

Parte 4

A.A. 2026-2027

Docente del Corso:
Dr. Gianluigi Ferri
DVM; PhD in Food Inspection
gferri@unite.it

PRODUZIONI PRIMARIE:
Animali produttori di derrate alimentari

- Mammiferi escludendo particolari abitudini alimentari legati ad usanze etniche

(es. consumo di carni di foca e balena da parte degli eschimesi)
l'uomo consuma una decina soltanto di queste specie;

- Uccelli;

- Prodotti ittici (pesci, molluschi, crostacei, echinodermi);

- Anfibi.

… definizione di “carne”

…differenti accezioni del termine

… genericamente:
tessuto muscolare di determinate specie animali

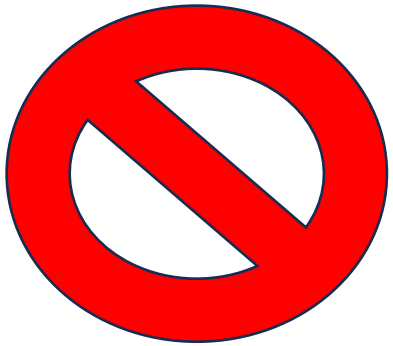
… tecnologicamente:

…insieme di tessuto muscolare, connettivo, adiposo, nervoso e di quella parte di sangue che rimane all’interno delle masse muscolari, ricavata da specie animali da macello secondo precise modalità di legge e che assume le sue caratteristiche tipiche solo dopo un adeguato periodo di “frollatura” a temperatura di refrigerazione…

… principali norme che regolano

produzione, sezionamento, commercializzazione
e trasformazione delle carni fresche

- Regolamento (CE) n. 852/04
- Regolamento (CE) n. 853/04
- Regolamento (CE) n. 854/04
- Regolamento (CE) n. 882/04



Reg. N. 625/2017

Reg. N. 627/2019

carne: tutte le parti commestibili degli animali sotto specificati, compreso il sangue

ungulati domestici: carni di animali domestici delle specie bovina (comprese le specie *Bubalus* e *Bison*), suina, ovina e caprina e di solipedi domestici.

pollame: carni di volatili d'allevamento, compresi i volatili che non sono considerati domestici ma che vengono allevati come animali domestici, ad **eccezione** dei **ratiti**.

lagomorfi: carni di conigli e lepri, nonché carni di roditori.

selvaggina selvatica:

- ungulati e lagomorfi selvatici, nonché altri mammiferi terrestri oggetto di attività venatorie ai fini del consumo umano considerati selvaggina selvatica ai sensi della legislazione vigente negli Stati membri interessati, compresi i mammiferi che vivono in territori chiusi in condizioni simili a quelle della selvaggina allo stato libero

- selvaggina di penna oggetto di attività venatoria ai fini del consumo umano



selvaggina d’allevamento: ratiti e mammiferi terrestri d’allevamento diversi dagli ungulati domestici

selvaggina selvatica piccola: selvaggina di penna e lagomorfi che vivono in libertà

selvaggina selvatica grossa: mammiferi terrestri selvatici che vivono in libertà i quali non appartengono alla categoria della selvaggina selvatica piccola.

carcassa

il corpo di un animale dopo il macello e la tolettatura.

carni fresche

le carni che non hanno subito alcun trattamento salvo la refrigerazione, il congelamento o la surgelazione, comprese quelle confezionate sotto vuoto o in atmosfera protettiva

frattaglie

le carni fresche diverse da quelle della carcassa, inclusi i visceri e il sangue

visceri

organi delle cavità toracica, addominale e pelvica, nonché la trachea e l’esofago, e il gozzo degli uccelli

carni macinate: carni disossate che sono state sottoposte a un’operazione di macinazione in frammenti e contengono meno dell’1% di sale.

carni separate meccanicamente (CSM): prodotto ottenuto mediante rimozione della carne da ossa carnose dopo il disosso o da carcasse di pollame, utilizzando mezzi meccanici che conducono alla perdita o modificazione della struttura muscolo-fibrosa

Nei volatili da cortile non possono essere utilizzate: zampe, pelle del collo e testa

preparazioni di carni: carni fresche, incluse le carni ridotte in frammenti, che hanno subito un'aggiunta di prodotti alimentari, condimenti o additivi o trattamenti non sufficienti a modificare la struttura muscolo-fibrosa interna della carne e ad eliminare quindi le caratteristiche delle carni fresche.

Prodotti a base di carne: i prodotti trasformati risultanti dalla trasformazione di carne o dall'ulteriore trasformazione di tali prodotti trasformati in modo tale che la superficie di taglio permette di constatare la scomparsa delle caratteristiche delle carni fresche.

“**carni**” tutte le parti dell’animale adatte al consumo alimentare umano, sangue compreso

“**carne**” insieme di tessuti muscolare, connettivo, adiposo, …, ricavato da un animale macellato in buono stato di salute e di nutrizione, dopo aver subito una adeguata frollatura a temperatura di refrigerazione.

NON SONO INVECE CARNI perché non fanno parte della carcassa:

- le zampe, la pelle o le penne (eccetto la cotenna del suino),
- la testa (si consumano però lingua, cervello e muscoli masticatori),
- il tubo gastroenterico dal duodeno in poi, gli organi sessuali primari (esclusi i testicoli consumati come animelle).

trippa: prestomaci dei ruminanti (rumine, reticolo, omaso) dopo opportuna raschiatura della mucosa interna e sbiancatura in acqua bollente.

animelle: alcune frattaglie tra cui pancreas, timo, testicoli e ghiandole salivari.

- Recenti emergenze alimentari riportate dall’opinione pubblica presunti effetti negativi sulla dieta
- Sospettato utilizzo sostanze nocive per incremento produzioni
- Aumentata richiesta da parte dei consumatori di carni di qualità eccellente prodotte con tecnologie idonee.

… cosa intendiamo per “qualità delle carni”?

la qualità è l'insieme delle proprietà e delle caratteristiche che conferiscono al prodotto la capacità di soddisfare esigenze espresse o implicite

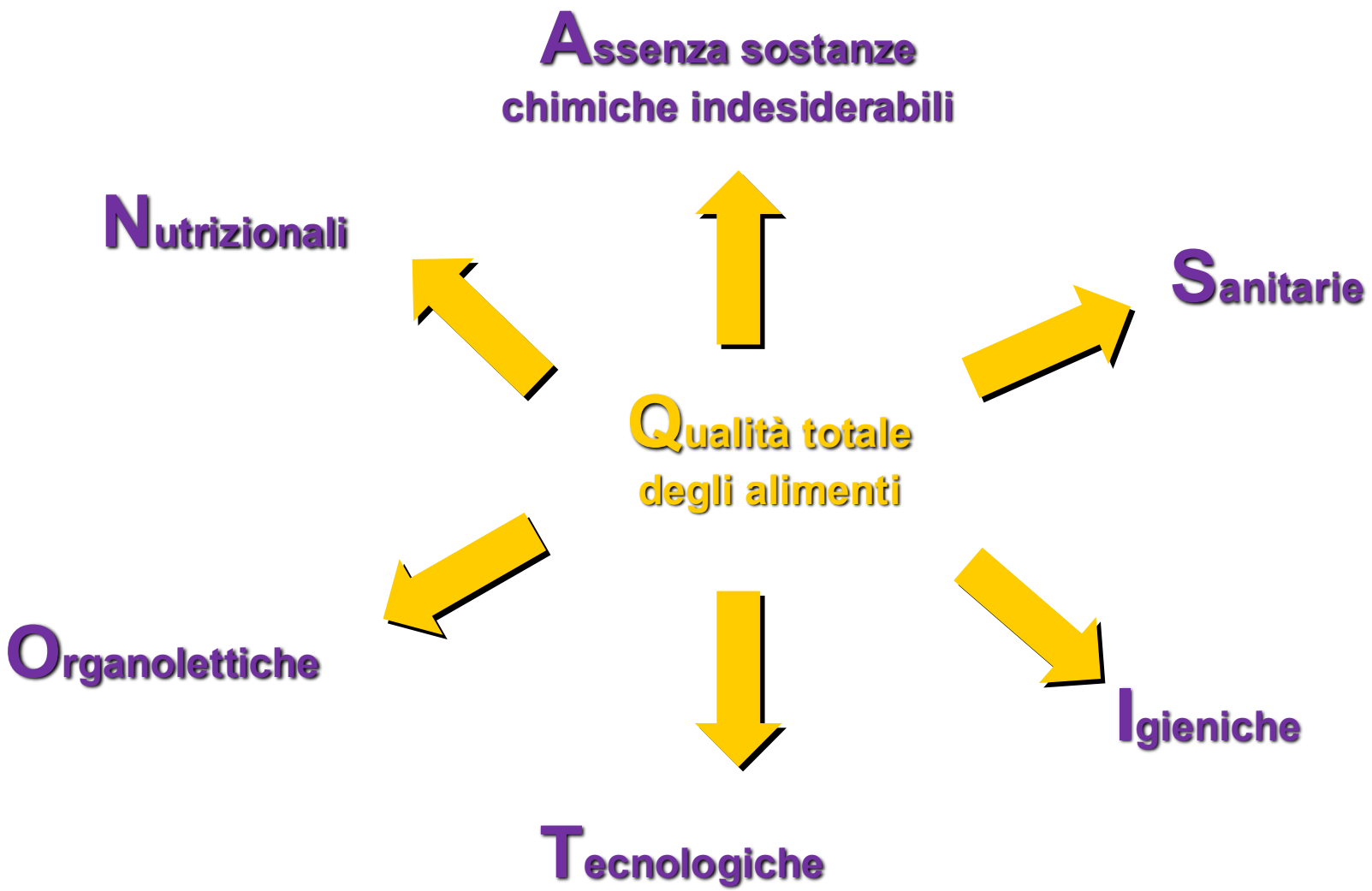
(International Organization for Standardization)

la qualità della carne è il complesso delle caratteristiche intrinseche, estrinseche e psico-sociologiche che la rendono

idonea a soddisfare le esigenze dei consumatori

modo di percezione della qualità:

- sensi (soddisfazione palato)
- tradizione
- costumi alimentari
- convinzioni etiche e religiose
- esperienze precedenti
- informazioni
- mode


Assenza sostanze
chimiche indesiderabili
Nutrizionali
Sanitarie
Qualità totale
degli alimenti
Organolettiche
Igieniche
Tecnologiche

qualità igienico-sanitaria

- microrganismi
- parassiti
- residui pesticidi
- residui additivi e farmaci
- residui anabolizzanti e sostanze non autorizzate
- residui metalli pesanti
- micotossine
- radionuclidi
- contenuto lipidico
- contenuto acidi grassi saturi
- contenuto di colesterolo

qualità nutrizionali

- valore energetico
- contenuto proteico
- contenuto di aminoacidi
- contenuto di vitamine
- contenuto di minerali

qualità tecnologiche

- contenuto in acqua
- capacità di ritenzione idrica
- perdite di cottura
- pH
- grasso di copertura

qualità organolettiche

osservabili all'atto dell'acquisto

- colore
- grana e tessitura
- essudazione superfici di taglio
- marezzatura

osservabili all'atto del pasto

- tenerezza
- succulenza
- sapidità
- fragranza
- assenza odori estranei

dove si “produce” la carne?

Macello: stabilimento adibito alla macellazione e la tolettatura degli animali le cui carni sono destinate al consumo umano

Laboratorio di sezionamento: stabilimento adibito al disosso e al sezionamento di carni

Operatori del Settore Alimentare (OSA):
Obblighi generali

… in base alle leggi attualmente in vigore

Regolamento (CE) n. 852/04
Regolamento (CE) n. 853/04

Riconoscimento e registrazione

Marchiatura di identificazione

Implementazione procedure basate sui principi dell'HACCP

Informazioni sulla catena alimentare

Riconoscimento e registrazione

… gli OSA immettono sul mercato prodotti di OA fabbricati nella comunità solo se sono stati preparati e manipolati esclusivamente in stabilimenti che

1. Soddisfano i requisiti del reg.(CE) n. 852/04 (allegati II e III)

2. Sono registrati presso l'Autorità Competente o riconosciuti dall'Autorità Competente ai sensi del reg. (CE) n. 854/04

stabilimenti di macellazione

→ obbligo del **riconoscimento**

Bollatura sanitaria e marchiatura di identificazione

… gli OSA immettono sul mercato prodotti di OA manipolati in uno stabilimento soggetto a riconoscimento solo se questo è contrassegnato

1. da un **bollo sanitario** apposto ai sensi del reg.(CE) n. 854/04 → Reg. UE N. 627/2019.

2. da un **marchio di identificazione** ai sensi del reg. (CE) n. 853/04 (All. 2 sez. I), qualora il bollo sanitario non sia previsto

Bollatura sanitaria e marchiatura di identificazione

Marchio di identificazione

Reg. (CE) n. 853/04, All. 2, sez. I

- deve essere apposto prima che il prodotto lasci lo stabilimento

- deve essere leggibile ed indelebile, i caratteri facilmente decifrabili
- ed essere chiaramente esposto per il controllo da parte delle AC

- deve indicare il nome del paese in cui è ubicato lo stabilimento (IT, …)

- deve indicare il numero di riconoscimento dello stabilimento

- deve avere forma ovale ed includere l'abbreviazione CE, EC, …

- può essere apposto direttamente sul prodotto, sull'involucro o
- sull'imballaggio o essere stampato su un'etichetta apposta a sua volta
- sul prodotto, sull'involucro o sull'imballaggio

Obiettivi delle procedure basate sui principi HACCP

Gli OSA predispongono, attuano e mantengono una o più procedure permanenti , basate sui principi del Sistema HACCP

1. Analisi dei pericoli associati ad ogni fase di produzione
2. Determinazione dei punti critici di controllo
3. Determinazione dei limiti critici o criteri
4. Determinazione del sistema di monitoraggio
5. Determinazione delle azioni correttive
6. Determinazione delle misure di verifica
7. Determinazione sistema di gestione documentazione

Obiettivi delle procedure basate sui principi HACCP

… a chi è rivolto l'obbligo dell'autocontrollo?

l'applicazione dei principi del sistema dell'analisi dei pericoli e dei punti critici di controllo (HACCP) alla produzione primaria **non** è ancora praticabile su base generalizzata

Obiettivi delle procedure basate sui principi HACCP

… a chi è rivolto l'obbligo dell'autocontrollo?

produzione primaria

tutte le fasi della produzione, dell'allevamento o della coltivazione dei prodotti primari, compresi

- il raccolto
- la mungitura
- la produzione zootecnica **precedente la macellazione**
- la caccia e la pesca
- la raccolta di prodotti selvatici

Regolamento (CE) n. 178/2002

Obiettivi delle procedure basate sui principi HACCP

Gli OSA che gestiscono i macelli devono assicurare che le procedure messe in atto garantiscano che ogni animale (o lotto di animali) ammesso nei locali del macello:

- sia adeguatamente identificato
- sia accompagnato dalle opportune informazioni fornite dalla azienda di provenienza (vedi seguito)
- non provenga da una azienda o zona soggette a restrizioni
- sia pulito
- sia sano (per quanto l'OSA possa giudicare)
- sia in condizioni soddisfacenti di benessere al momento dell'arrivo

nel caso in cui anche uno dei **punti elencati venga disatteso, l'OSA deve avvertire il Veterinario Ufficiale**

Informazioni sulla catena alimentare

Gli OSA che gestiscono i macelli devono, se del caso, richiedere, ricevere, controllare le informazioni sulla catena alimentare, nonché intervenire come segue:

Non accettare animali nei locali di macellazione senza aver richiesto ed essere in possesso delle pertinenti informazioni in materia di sicurezza alimentare che figurano nei **registri tenuti presso l'azienda di provenienza degli animali** a norma del reg. (CE) n. 852/04

il possesso di tali informazioni deve precedere

di almeno **24 ore** l'arrivo degli animali

… solo nel caso di pollame, suini e selvaggina di allevamento sottoposti a **ispezione *ante mortem* nell'azienda di provenienza** e accompagnati da un **certificato veterinario attestante il loro stato di salute**, sempre previa autorizzazione della AC, le informazioni sulla catena alimentare possono arrivare **contestualmente** agli animali.

Informazioni sulla catena alimentare

le **informazioni sulla catena alimentare** riguardano in particolare:

- status sanitario dell'azienda di provenienza o del territorio regionale
- condizioni di salute degli animali
- medicinali somministrati o trattamenti effettuati
- presenza di malattie che potrebbero incidere sulla sicurezza delle carni
- risultati dei campioni prelevati nel quadro di monitoraggio e controllo delle zoonosi e dei residui e di tutte le analisi effettuate su animali o altri campioni
- relazioni sugli esiti delle ispezioni ante e post mortem
- dati relativi alla produzione (quando indicativi della presenza di malattie)
- generalità del veterinario privato che assiste l'azienda

Informazioni sulla catena alimentare

valutazione delle informazioni sulla catena alimentare

→ **responsabilità dell'OSA**

… in caso di accettazione degli animali per la macellazione
→ consegna al VU documenti relativi a:
status sanitario dell'azienda di provenienza (o territorio regionale)

medicinali somministrati o trattamenti effettuati

l'OSA deve mettere le informazioni sulla catena alimentare
a disposizione del veterinario ufficiale almeno 24 ore prima
dell'arrivo degli animali (salvo quanto diversamente disposto)

la macellazione non potrà aver luogo
fino a che il veterinario non lo autorizzi

Operatori del Settore Alimentare (OSA):
Requisiti specifici

… durante la raccolta e il trasporto occorre manipolare gli animali con cura evitando loro **inutili sofferenze**

… ricevimento animali e ispezione prima della macellazione
→ **locale** o **luogo coperto**

… macello

… al fine di evitare le contaminazioni:

… possesso di idonei requisiti strutturali
… rispetto principio della marcia in avanti
… presenza di locali separati per le diverse operazioni
… presenza di idonei dispositivi per lavaggio utensili e mani operatori
… presenza strutture per il deposito refrigerato carni in osservazione
… presenza strutture per il deposito refrigerato carni inidonee consumo
… reparto separato con impianti per sanizzazione gabbie e mezzi

… refrigerazione e temperature di lavorazione

… dopo l'ispezione e l'eviscerazione devono essere refrigerati prima possibile a T non superiori a **4°C** (tranne sezionamento a caldo)

… queste T vanno mantenute anche durante le operazioni di sezionamento, disosso, rifilatura, affettatura, spezzettatura, confezionamento e imballaggio

(T ambienti di lavorazione = **12°C**)

… requisiti di lavorazione

carni macinate e preparazioni di carni di pollame

materia prima refrigerata

→ lavorazione **entro 3 giorni** dalla macellazione

(specie diverse dal pollame = entro 6 giorni)

conservazione per tutto il periodo di immagazzinamento e traporto:

carni macinate → T< **2** °C (tutte)

preparazioni di carne → T< **4** °C (tutte)

congelamento → T< **-18** °C (tutte)

… requisiti di lavorazione

carni separate meccanicamente

materia prima refrigerata

→ lavorazione **entro 3 giorni** dalla macellazione

conservazione → T< **2** °C (tutte)

congelamento → T< **-18** °C (tutte)

… macellazione in azienda

Punto 1

… solo nei casi di …

- pollame ad eviscerazione differita
- anatre e oche allevate per la produzione di foie gras
- uccelli non considerati domestici ma allevati come tali

… macellazione in azienda

Punto 2

… solo su parere favorevole dell'AC subordinato a:

- azienda periodicamente sottoposta a **ispezione veterinaria**
- AC informata su **data e ora** della macellazione dall'OSA
- presenza di strutture che consentano la **visita ante mortem di gruppo**
- presenza di strutture igienicamente idonee alla **macellazione**
- rispetto del **benessere animale**

… quando **NON** si applica quanto detto???

Regolamento (CE) n. 852/2004

campo di applicazione

escluse:

- la produzione primaria per uso domestico privato

- la preparazione, manipolazione e conservazione domestica di alimenti destinati al consumo domestico privato

- la fornitura diretta di piccoli quantitativi di prodotti primari dal produttore al consumatore finale o a dettaglianti locali che forniscono direttamente il consumatore finale (le norme a disciplina di tale attività sono a carattere nazionale e pertanto stabilite dai diversi Stati membri)

… il regolamento (CE) n. 853/2004

specifica che è esclusa dal suo campo di applicazione

… la fornitura diretta di piccoli quantitativi di **carni provenienti da pollame e lagomorfi macellati nell'azienda agricola** dal produttore al consumatore finale o ai laboratori annessi agli esercizi di commercio al dettaglio o di somministrazione a livello locale che forniscono direttamente al consumatore finale siffatte carni come carni fresche
(le norme a disciplina di tale attività sono a carattere nazionale e pertanto stabilite dai diversi Stati membri)

I controlli sanitari sulle carni: principi – obiettivi - metodi

… cosa dicono
i nuovi regolamenti
????

Principali punti di innovazione

Il «sistema di controllo»

Il sistema di controllo, definito nell'articolo 3 paragrafo 7, è "*un sistema comprendente le autorità competenti e le risorse, le strutture, le disposizioni e le procedure predisposte in uno Stato membro al fine di garantire che i controlli ufficiali siano effettuati in conformità del presente regolamento e delle norme di cui agli articoli da 18 a 27".*

Stato membro

Sistema di controllo

- Autorità competenti
- Risorse umane
- Strutture
- Disposizioni e procedure

Controlli ufficiali

Reg. (UE) n. 625/2017

Stato membro

Sistema di controllo

Termine non presente tra le definizioni del Reg. (CE) n. 882

I Controlli Ufficiali vengono inquadrati in un'ottica di «sistema»

Il Piano di controllo viene così caratterizzato dall'Art. 3: "*descrizione elaborata dalle autorità competenti contenente informazioni sulla struttura e sull'organizzazione del sistema dei controlli ufficiali e del suo funzionamento e la pianificazione dettagliata dei controlli ufficiali da effettuare nel corso di un determinato lasso temporale in ciascuno dei settori di cui all'articolo 1, paragrafo 2*".

In particolare, i PCNP (Piano di controllo nazionale pluriennale) elaborati da ciascuno Stato membro contengono informazioni generali sull'organizzazione dei «sistemi di controllo».

Stato membro

Sistema di controllo

- Autorità competenti
- Risorse umane
- Strutture
- Disposizioni e procedure

Controlli ufficiali

Reg. (UE) n. 625/2017

Norme di cui agli artt. da 18 a 27
→ atti delegati e di esecuzione in merito a specifici settori (alimenti di OA, benessere degli animali, SOA e derivati)

L’articolo 18 Reg. (UE) n. 627/2019

Norme specifiche sui controlli ufficiali e per le azioni intraprese dalle autorità competenti in merito alla produzione di prodotti di origine animale destinati al consumo umano

L’articolo 18 Reg. (UE) n. 627/2019

PAROLE CHIAVE: controlli ufficiali
prodotti di OA destinati al consumo umano

Articolo 17

Definizioni specifiche

Ai fini dell'articolo 18 si intende per:

«**sotto la responsabilità del veterinario ufficiale**»: il veterinario ufficiale assegna l'esecuzione di un compito a un assistente ufficiale;

«**sotto la supervisione del veterinario ufficiale**»: un compito è svolto da un assistente ufficiale sotto la responsabilità del veterinario ufficiale e il veterinario ufficiale è presente nei locali per il tempo necessario a eseguire tale compito;

Articolo 17

Definizioni specifiche

Ai fini dell'articolo 18 si intende per:

«**ispezione *ante mortem***»: la verifica, prima delle attività di macellazione, delle prescrizioni in materia di salute umana e animale di benessere degli animali, compreso, se del caso, l'esame clinico di ogni singolo animale, e la verifica delle informazioni sulla catena alimentare di cui alla sezione III dell'allegato II del regolamento (CE) n. 853/2004;

Articolo 17

Definizioni specifiche

Ai fini dell'articolo 18 si intende per:

«**ispezione *post mortem***»: la verifica presso macelli o stabilimenti per la lavorazione della selvaggina della conformità a quanto prescritto in materia di:

- carcasse, come definite all'allegato I, punto 1.9 del regolamento (CE) n. 853/2004, e frattaglie, come definite all'allegato I, punto 1.11, per decidere se la carne è idonea al consumo umano;
- rimozione sicura di materiale specifico a rischio; e
- salute e benessere degli animali.

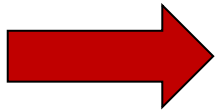
I prodotti di origine animale sono individuati dal regolamento 853/2004 come:
«*Alimenti di origine animale, compresi il miele e il sangue, molluschi bivalvi vivi, tunicati vivi e gasteropodi marini vivi destinati al consumo umano, altri animali destinati a essere forniti vivi al consumatore finale, che vanno trattati conformemente a tale utilizzo*».

I controlli ufficiali secondo il paragrafo 1 comprendono la verifica della conformità ai seguenti regolamenti:

- Regolamento UE 852/2004 sull'igiene dei prodotti alimentari
- Regolamento UE 853/2004 sulle norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale
- Regolamento UE 1069/2009 sulle norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale e ai prodotti derivati non destinati al consumo umano
- Regolamento UE 1099/2009 relativo alla protezione degli animali durante l'abbattimento

… dal 14 Dicembre 2019 le nuove disposizioni in merito ai controlli ufficiali sui prodotti di origine animale saranno, oltre al suddetto articolo 18, i relativi atti delegati previsti dal comma 7 e atti di esecuzione previsti dal comma 8.

Controlli ufficiali alimenti di OA



Art. 18 Reg. (UE) n. 625/2017

Atti delegati (comma 7)

Atti di esecuzione (comma 8)

Atto delegato («delegated act») adottato dalla Commissione europea in data 08/02/2019 («chi» esegue i controlli ufficiali)

Regolamento delegato 624/2019

Atto di esecuzione («implementing act») adottato dalla Commissione europea in data 15/03/2019 («come» vengono effettuati i controlli → modalità uniformi di esecuzione da parte del veterinario ufficiale/ausiliario ufficiale)

Regolamento di esecuzione 627/2019

Pubblicati in via definitiva sulla GU dell'UE L 131 del 17/05/2019
Applicabili dal 14 dicembre 2019

Questi tipi di atti giuridici costituiscono la cosiddetta *legislazione terziaria*

Regolamento delegato 627/2019

Norme specifiche per l'esecuzione dei Controlli Ufficiali sulla produzione di carni e per le zone di produzione e stabulazione dei molluschi

… e nel settore delle carni fresche ????

controlli ufficiali – settore carni

finalità:

… i controlli ufficiali sulla produzione delle carni sono necessari per **verificare che gli OSA rispettino le norme in materia di igiene, i criteri e gli obiettivi stabiliti dalla normativa comunitaria.**

mezzi:

… detti controlli ufficiali dovrebbero consistere in **audit** delle attività degli OSA e in **attività di ispezione** e in **verifiche** sui controlli effettuati dagli OSA.

audit

un esame sistematico e indipendente per accertare se determinate attività e i risultati correlati sono conformi alle disposizioni previste e se tali disposizioni sono attuate in modo efficace e sono adeguate per raggiungere determinati obiettivi

ispezione

l'esame di stabilimenti, di animali e di prodotti alimentari e della loro trasformazione, delle aziende del settore dei prodotti alimentari e del loro sistema di gestione e di produzione compresi documenti, test sul prodotto finito e prassi di somministrazione di mangimi, nonché dell'origine e destinazione degli input e output di produzione per verificare che tutte queste voci siano conformi alle prescrizioni di legge

verifica

il controllo, mediante esame e la presentazione di prove obiettive, dell'ottemperanza a requisiti specifici

… chi esegue i controlli ufficiali nel settore carni ???

controlli ufficiali – settore carni

Autorità Competente:

… tenuto conto delle loro conoscenze specialistiche, è opportuno che i

veterinari ufficiali effettuino audit e ispezioni di macelli, stabilimenti per la lavorazione dlela selvaggina e taluni laboratori di sezionamento.

Gli Stati membri dovrebbero poter decidere quale sia il personale più adatto per gli audit e le ispezioni di altri tipi di stabilimenti.

RIASSUMENDO

controlli ufficiali sulla produzione delle carni

- **audit** delle attività degli operatori
- attività di **ispezione**
- **verifiche** sui controlli effettuati dagli operatori

… **Veterinari Ufficiali**

audit e ispezioni presso

macelli

stabilimenti per la lavorazione della selvaggina

laboratori di sezionamento carni fresche

… **personale ritenuto più adatto dagli Stati membri**

audit e ispezioni presso altri tipi di stabilimenti

- le informazioni sulla catena alimentare
- l’ispezione *ante mortem*
- il benessere degli animali
- l’ispezione *post mortem*
- il materiale specifico a rischio
- le prove di laboratorio

• controlli ufficiali carni fresche - art. 5 reg. (CE) n. 854/04

… il veterinario ufficiale svolge compiti ispettivi
… in particolare per quanto riguarda

A. informazioni sulla catena alimentare

B. ispezione *ante mortem*

C. benessere degli animali

D. ispezione *post mortem*

E. materiale specifico a rischio

F. prove di laboratorio

… il veterinario ufficiale nell'espletare i propri compiti ispettivi, tiene conto dei risultati emersi dal:

• controllo ed analisi delle informazioni tratte dai registri tenuti presso l'azienda di provenienza degli animali

• controllo dei **certificali ufficiali** che accompagnano gli animali e di eventuali dichiarazioni dei veterinari (ufficiali o autorizzati), che effettuano i controlli a livello della produzione primaria

• adozione da parte degli OSA di **misure aggiuntive** atte a garantire la sicurezza degli alimenti (sistemi integrati, certificazioni conferite da una terza parte indipendente, altro, …)

mancanza di informazioni

- ammissione alla macellazione soltanto **dopo** che l'operatore ha ottenuto e verificato le pertinenti informazioni sulla catena alimentare

- possibile la macellazione in mancanza di tali informazioni, che devono comunque pervenire **prima che la carcassa sia ammessa al consumo**

- in tal caso, in attesa del giudizio definitivo, carcassa e frattaglie devono essere conservate **separatamente** dalle altre carni

- quando tali informazioni non sono disponibili **entro 24 ore** dall'arrivo dell'animale al macello, tutte le sue carni sono dichiarate **non idonee al consumo umano**. Se l'animale non è stato macellato, va abbattuto separatamente dagli altri animali

informazioni incompatibili

non possono essere ammessi alla macellazione (se non in conformità delle procedure stabilite in virtù della normativa comunitaria al fine di eliminare i rischi per la salute umana o degli animali)

e, se già al macello, devono essere **abbattuti separatamente** adottando opportune precauzioni e dichiarati non idonei al consumo umano

- animali provenienti da aziende o zone soggette a **divieto di movimento o ad altre restrizioni** connesse con la salute pubblica o degli animali

- animali trattati non rispettando le norme relative ai **medicinali veterinari**

- animali per i quali si teme sussistano **condizioni di rischio per la salute umana o degli animali**

A. informazioni sulla catena alimentare

B. ispezione *ante mortem*

C. benessere degli animali

D. ispezione *post mortem*

E. materiale specifico a rischio

F. prove di laboratorio

- … l’ispezione *ante mortem* deve permettere di accertare eventuali segni …

- che il benessere degli animali è stato compromesso

• di condizioni che potrebbero ripercuotersi negativamente sulla salute umana o degli animali, con particolare riferimento alle zoonosi ed alle malattie di cui all’elenco A o, laddove opportuno, dell’elenco B dell’Ufficio internazionale delle epizoozie (UIE)

Il veterinario ufficiale deve effettuare una ispezione ante mortem a tutti gli animali **prima** della macellazione…

… non occorre tuttavia che presenzi all'ispezione ante mortem nel macello se …

veterinario ufficiale o autorizzato

→ ispezione *ante mortem* azienda di provenienza

→ ha verificato le informazioni sulla catena alimentare

→ ha comunicato i risultati all'assistente specializzato ufficiale

assistente specializzato ufficiale

→ valutazione idoneità informazioni sulla catena alimentare

→ accertamento stato di salute e benessere degli animali

veterinario ufficiale del macello

→ accertamento corretto svolgimento verifiche assistente

l'ispezione degli animali deve stabilire se:

- essi sono affetti da una **malattia** o una condizione che potrebbe trasmettersi ad altri animali o agli esseri umani a causa della manipolazione o del consumo della carne, oppure mostrano un comportamento individuale o collettivo tale da far temere l'insorgere di una siffatta malattia

- **alterazioni generali del comportamento** o segni di malattie che potrebbero rendere le carni non idonee al consumo umano

- appaiano segni o vi siano motivi di sospettare che gli animali contengano **residui chimici** a livelli superiori a quelli stabiliti dalla normativa comunitaria o residui di sostanze proibite

… il veterinario ufficiale svolge compiti ispettivi
… in particolare per quanto riguarda

A. informazioni sulla catena alimentare

B. ispezione *ante mortem*

C. benessere degli animali

D. ispezione *post mortem*

E. materiale specifico a rischio

F. prove di laboratorio

Mancato rispetto norme relative alla protezione degli animali

- durante il trasporto

- misure necessarie in conformità pertinente normativa comunitaria

- durante la macellazione o l'abbattimento

1. immediata adozione misure correttive da parte dell'operatore
2. emissione di direttive
3. rallentamento della produzione
4. interruzione della produzione
5. se del caso, informazione altre autorità competenti

se le mancanze sono registrate da un assistente specializzato ufficiale …
- immediata comunicazione veterinario ufficiale
- nei casi urgenti, adozione temporanea misure sopra illustrate

… il veterinario ufficiale svolge compiti ispettivi
… in particolare per quanto riguarda

A. informazioni sulla catena alimentare

B. ispezione *ante mortem*

C. benessere degli animali

D. ispezione *post mortem*

E. materiale specifico a rischio

F. prove di laboratorio

ulteriori esami come palpazione, incisione e prove di laboratorio sono effettuati **se ritenuti necessari** per

a) giungere a una **diagnosi definitiva**

b) individuare la presenza di

i) una **malattia** degli animali

ii) **agenti contaminanti** a livelli non consentiti

iii) **non conformità rispetto ai criteri microbiologici**

iv) altri fattori tali da rendere le **carni non idonee** al consumo umano o da imporre restrizioni all'utilizzo delle stesse

… in particolare nel caso di animali sottoposti a macellazione di emergenza

Carni non idonee al consumo umano

• provenienti da animali **non sottoposti a ispezione *ante mortem***, esclusa la selvaggina cacciata.

• provenienti da animali le cui **frattaglie non** siano state **sottoposte a ispezione *post mortem.***

• provenienti da **animali morti prima della macellazione**, nati morti, abortiti o macellati prima dei 7 giorni di età.

• provenienti da animali **affetti da malattia** di cui all'elenco A o, laddove opportuno, all'elenco B dell'Ufficio internazionale delle epizoozie (UIE), tranne quanto diversamente stabilito dalla sezione IV.

• provenienti da animali affetti da **malattia generalizzata**, come setticemia, piemia, tossiemia o viremia generalizzate.

carni non idonee al consumo umano

- **non conformi ai criteri microbiologici** comunitari

- su cui sia stata rilevata una **infestazione parassitaria**, tranne quanto diversamente stabilito dalla sezione IV

- con **residui** o **contaminanti** a livelli superiori a quelli stabiliti dalla normativa comunitaria (scostamenti dai livelli previsti devono inoltre prevedere ulteriori analisi)

- provenienti da animali o carcasse contenenti **sostanze proibite** o **loro residui**

- fegato e reni di animali di età superiore a 2 anni, originari di regioni in cui l'attuazione del piano residui ha permesso di constatare la presenza di metalli pesanti nell'ambiente.

carni **non** idonee al consumo umano

- illegalmente trattate con **sostanze decontaminanti**
- illegalmente trattate con **radiazioni ionizzanti** o **raggi UV**
- contengano **corpi estranei** (eccezione fatta per il materiale utilizzato per la caccia nella selvaggina selvatica)
- eccedenti i livelli comunitari massimi stabiliti per la **radioattività**
- con **alterazioni fisiopatologiche**, anomalie della **consistenza**, **dissanguamento insufficicente** (escluso selvaggina selvatica) o con **anomalie organolettiche** in particolare intenso odore sessuale.

carni non idonee al consumo umano

- provenienti da **animali cachettici**

- contenenti **materiale specifico a rischio**

- sporche o con **contaminazioni fecali** o di altro tipo

- **potenzialmente rischiose** per la salute pubblica o degli animali o per
- qualsiasi motivo **non idonee al consumo umano** secondo parere del
- veterinario ufficiale.

Prove di laboratorio

- monitoraggio e controllo zoonosi ed agenti zoonotici

- prove specifiche di laboratorio per la diagnosi delle TSE (Regolamento UE N. 999/2001)

- rilevazione sostanze o prodotti non autorizzati e controllo delle sostanze regolamentate, in particolare nel contesto dei piani nazionali residui di cui alla Direttiva 96/23/CE

- individuazione delle malattie di cui all'all'elenco A o, laddove opportuno, all'elenco B dell'Ufficio internazionale delle epizoozie (UIE)

- altre prove di laboratorio ritenute necessarie …

B. mansioni specifiche per quanto riguarda il campionamento e le analisi

… il personale del macello che ha ricevuto una specifica formazione sotto la supervisione del veterinario ufficiale può, sotto la responsabilità e la supervisione dello stesso, svolgere mansioni specifiche per quanto riguarda il campionamento e le analisi sugli animali di tutte le specie

… cos’è la sicurezza degli alimenti???

è il risultato di diversi fattori:

A) *requisiti d'igiene minimi stabiliti dalla legislazione*

B) *controlli ufficiali per verificare l'osservanza da parte degli operatori del settore alimentare*

C) *programmi e procedure per la sicurezza degli alimenti basati sui principi del sistema HACCP realizzati ed elaborati dagli operatori del settore alimentare*

Regolamento 852/04 – Considerazioni 1

strategia integrata

… dal luogo di produzione primaria
… al punto di commercializzazione (o esportazione) …

ogni operatore del settore alimentare lungo la catena alimentare dovrebbe garantire che tale sicurezza non sia compromessa

può essere riassunta nei seguenti punti (1) :

- Applicazione del metodo HACCP (codex alimentarius) a tutti gli operatori del settore alimentare.

- Definizione degli OSA (Obiettivi di Sicurezza Alimentare) come metodo di lavoro per obiettivi da raggiungere piuttosto che di adempimenti da eseguire. Gli OSA si raggiungono mediante l'applicazione di specifiche procedure, da parte degli operatori del settore alimentare, che

In estrema sintesi la linea operativa può essere riassunta nei seguenti punti (2):

- Ridefinisce i compiti, i metodi ed i risultati attesi nei compiti dei controlli sugli alimenti di origine animale.

- Delinea la necessità di integrazione tra l'attività di autocontrollo degli operatori del settore alimentare e quella svolta dal controllo ufficiale, ai fini di raggiungere il **livello di sicurezza alimentare prescelto.**

REGOLAMENTO (CE) n. 2073/2005

sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari

I criteri microbiologici
devono poter
essere riveduti e modificati,
se necessario,
per tenere conto dell'evoluzione nei settori della sicurezza alimentare e della microbiologia degli alimenti,
ossia dei progressi scientifici, tecnologici e metodologici,
dei cambiamenti nei livelli di prevalenza e contaminazione
e nella percentuale di consumatori sensibili,
nonché degli eventuali risultati che emergono dalla
valutazione dei rischi.

Food microbiology: from the legal sample collection to the laboratory

Dr. Gianluigi Ferri
DVM; Ph.D. in Food Inspection
gferri@unite.it

Course aims

- ***Sampling Methods*** from macro to micro environnement;
- Food Operators (**OSA**) and Sanitary Authorities (**AC**);
- Strict correlation between the European Regulations and Analytical assays;
- **PCR** as ”**GOLD-STANDARD**” exam;
- **National and European Legal Corpora**;
- **Qualitative** (RT-PCR or nested PCR) and **Quantitative** (qRT-PCR or qPCR) assays.

Sampling methods

- Depends on **Food matrices** (solid, liquid or gaseous);
- Aliquots, collection methods, International Standards (**ISO procedures**);
- Referring to the legal values.
- **EU Reg. No. 2073/2005** → ***Food safety Criteria*** (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterotoxins from *Staphyloccous* spp., *E. coli*, *Cronobacter* spp., istamina);

→ ***Food Process Hygiene*** [Total Bacterial Count, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., Positive coagualse Staphylococci, *Bacillus cereus* (Reg. 1441/2007].

Brain storming on foodborne pathogens…

- **One-health approach**;
- Why are THEY mentioned in the **European Law**?

Many practical examples from law…

▼M1

Capitolo 1. Criteri di sicurezza alimentare

	Categoria alimentare	Microrganismi/loro tossine, metaboliti	Piano di campionamento (1)		Limiti (2)		Metodo d'analisi di riferimento (3)	Fase a cui si applica il criterio
			n	c	m	M		
1.1.	Alimenti pronti per lattanti e alimenti pronti a fini medici speciali (4)	*Listeria monocytogenes*	10	0	►M9 Non rilevabile ◄ in 25 g		EN/ISO 11290-1	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
1.2.	Alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di *Listeria monocytogenes* diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali	*Listeria monocytogenes*	5	0	100 ufc/g (5)		EN/ISO 11290-2 (6)	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
			5	0	►M9 Non rilevabile ◄ in 25 g (7)		EN/ISO 11290-1.	Prima che gli alimenti non siano più sotto il controllo diretto dell'operatore del settore alimentare che li produce
1.3.	Alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *Listeria monocytogenes*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali (4) (8)	*Listeria monocytogenes*	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2 (6)	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
1.4.	Carne macinata e preparati a base di carne destinati ad essere consumati crudi	*Salmonella*	5	0	►M9 Non rilevabile ◄ in 25 g		►M9 EN ISO 6579-1 ◄	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
▼M2								
1.5	Carne macinata e preparazioni a base di carne di pollame destinate ad essere consumate cotte	*Salmonella*	5	0	►M9 Non rilevabile ◄ in 25 g		►M9 EN ISO 6579-1 ◄	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità

Food safety criteria and process hygiene??

▼M1

Capitolo 2. Criteri di igiene del processo

2.1. *Carne e prodotti a base di carne*

Categoria alimentare	Microrganismi	Piano di campionamento (1)		Limiti (2)		Metodo d'analisi di riferimento (3)	Fase a cui si applica il criterio	Azione in caso di risultati insoddisfacenti
		n	c	m	M			
2.1.1. Carcasse di bovini, ovini, caprini ed equini (4)	Conteggio delle colonie aerobiche			3,5 log ufc/cm^2 log medio giornaliero	5,0 log ufc/cm^2 log medio giornaliero	►M9 EN ISO 4833-1 ◄	Carcasse dopo la macellazione, ma prima del raffreddamento	Miglioramento delle condizioni igieniche della macellazione e revisione dei controlli del processo
	Enterobatteriacee			1,5 log ufc/cm^2 log medio giornaliero	2,5 log ufc/cm^2 log medio giornaliero	►M9 EN ISO 21528-2 ◄	Carcasse dopo la macellazione, ma prima del raffreddamento	Miglioramento delle condizioni igieniche della macellazione e revisione dei controlli del processo
2.1.2. Carcasse di suini (4)	Conteggio delle colonie aerobiche			4,0 log ufc/cm^2 log medio giornaliero	5,0 log ufc/cm^2 log medio giornaliero	►M9 EN ISO 4833-1 ◄	Carcasse dopo la macellazione, ma prima del raffreddamento	Miglioramento delle condizioni igieniche della macellazione e revisione dei controlli del processo
	Enterobatteriacee			2,0 log ufc/cm^2 log medio giornaliero	3,0 log ufc/cm^2 log medio giornaliero	►M9 EN ISO 21528-2 ◄	Carcasse dopo la macellazione, ma prima del raffreddamento	Miglioramento delle condizioni igieniche della macellazione e revisione dei controlli del processo
2.1.3. Carcasse di bovini, ovini, caprini ed equini	*Salmonella*	50 (5)	2 (6)	►M9 Non rilevabile ◄ nell'area esaminata per carcassa		►M9 EN ISO 6579-1 ◄	Carcasse dopo la macellazione, ma prima del raffreddamento	Miglioramento delle condizioni igieniche della macellazione, revisione dei controlli del processo e dell'origine degli animali

n, c, m, M…???

- **n**: number of units comprising the sample;
- **c**: number of sample units giving values over **m**, or between **m** and **M**.



How to collect from the OSA perspective…

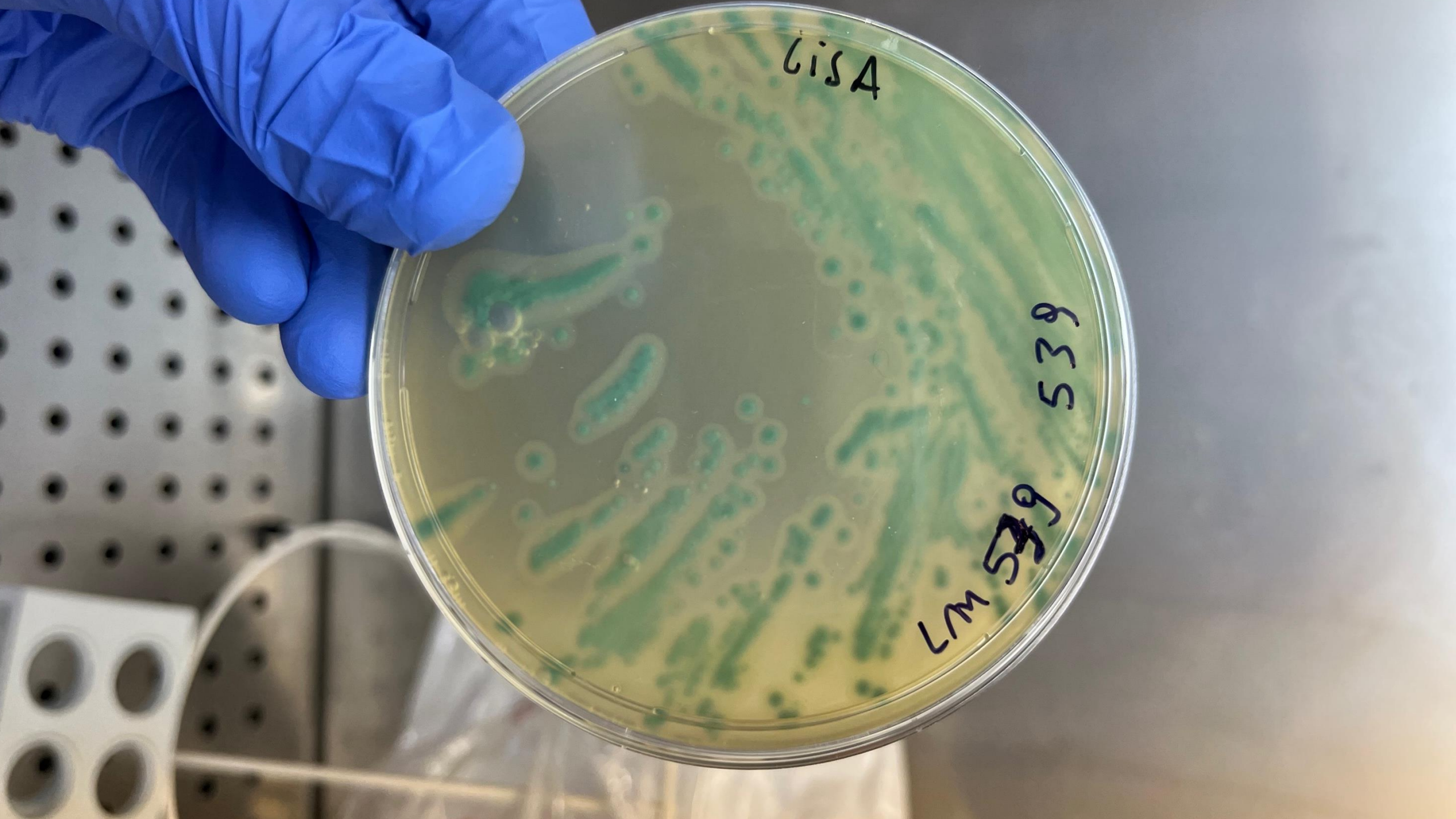
- All **laboratory procedures** must be validated and in agreement with ISO.
- The selected laboratory must be **certified** by an international **accredited** organization.
- **Direct** sampling performed by certified laboratories operators;
- Sterile and appropriate vials;
- All results must be **dated** and **signed**;
- **Data collection** and analysis (digital storage).



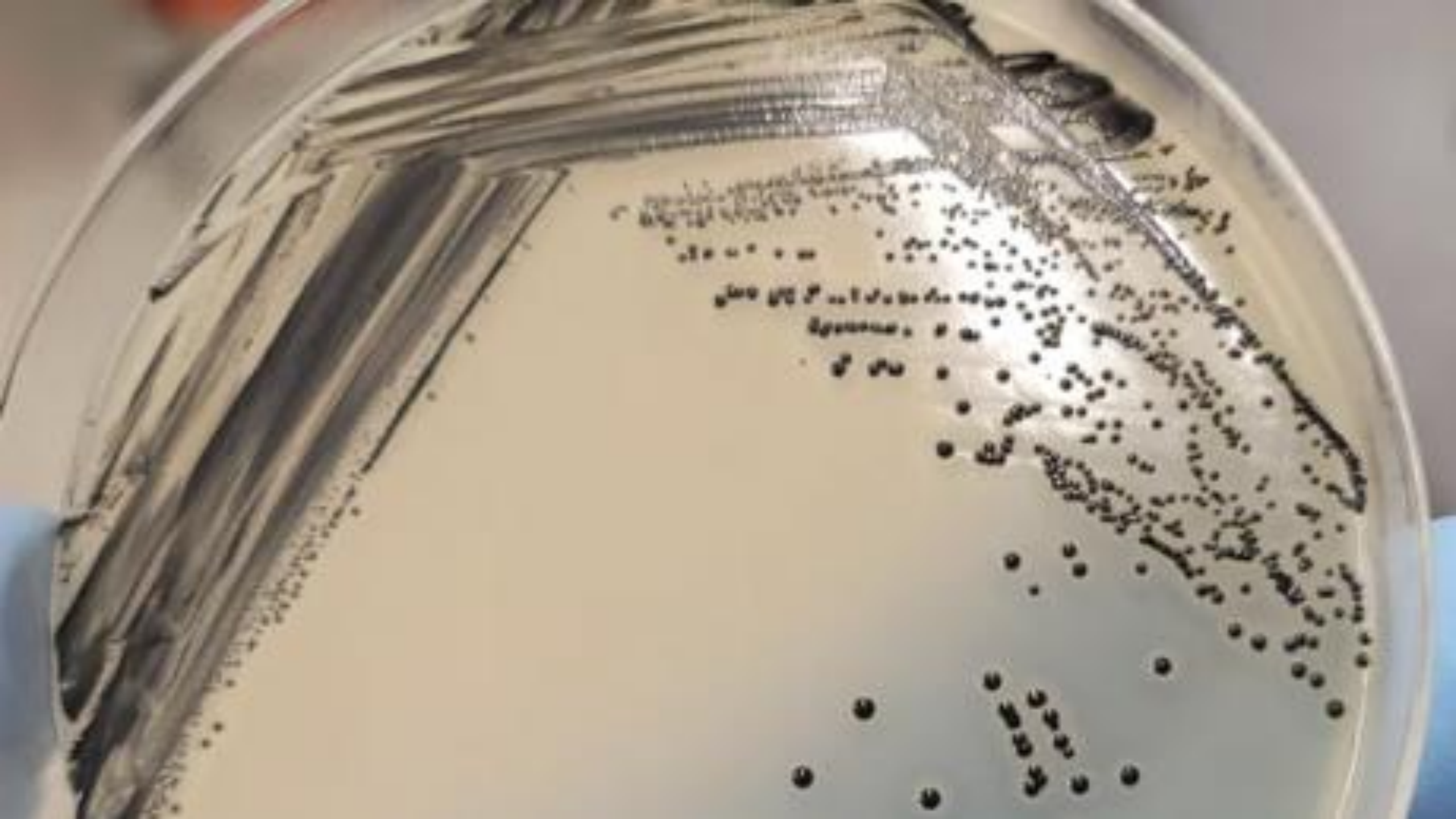
- From **raw** to **processed** food matrices;
- **Timing**;
- **Shelf-life** and challenge tests;
- Biostatistical evaluation.

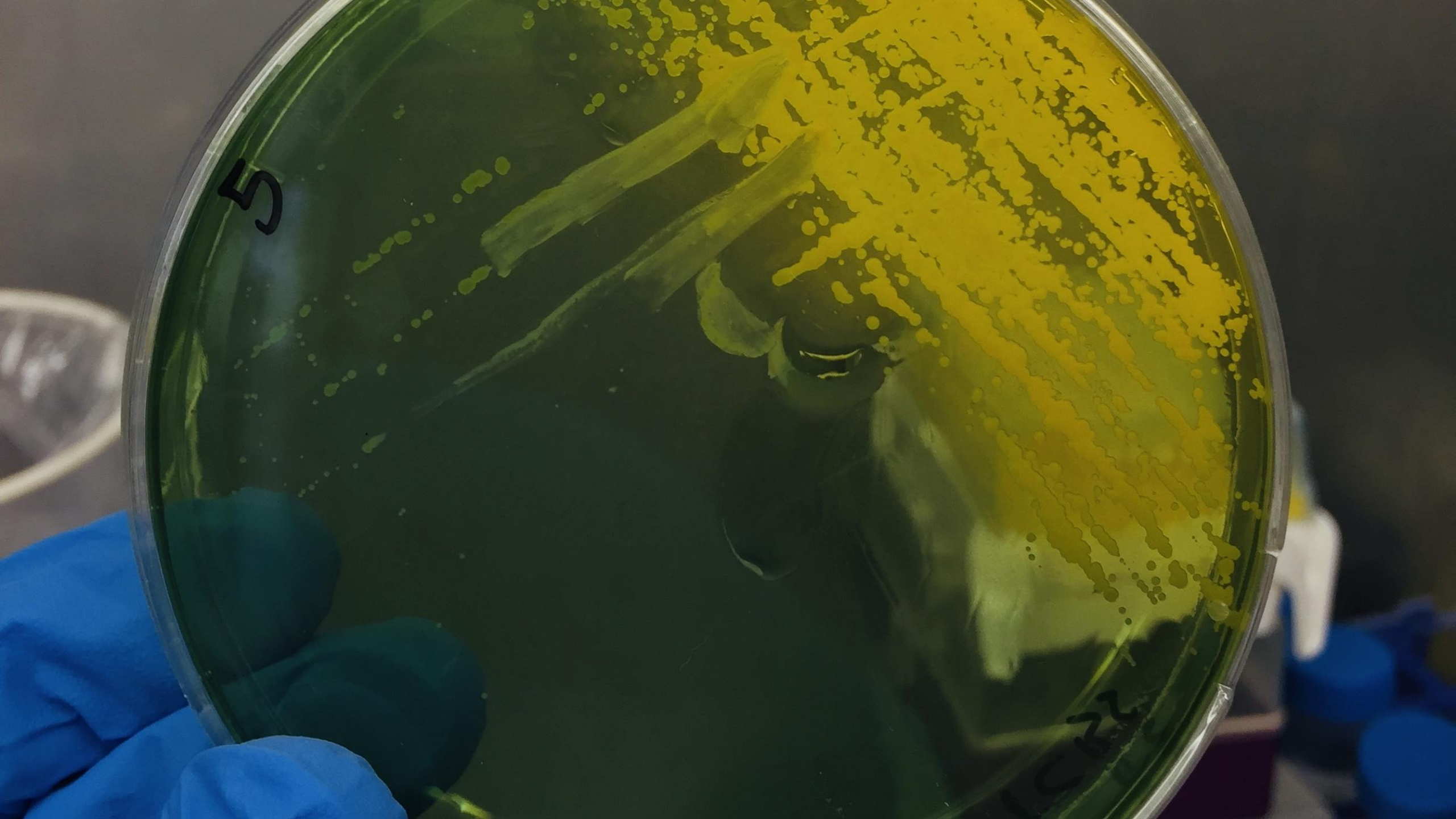


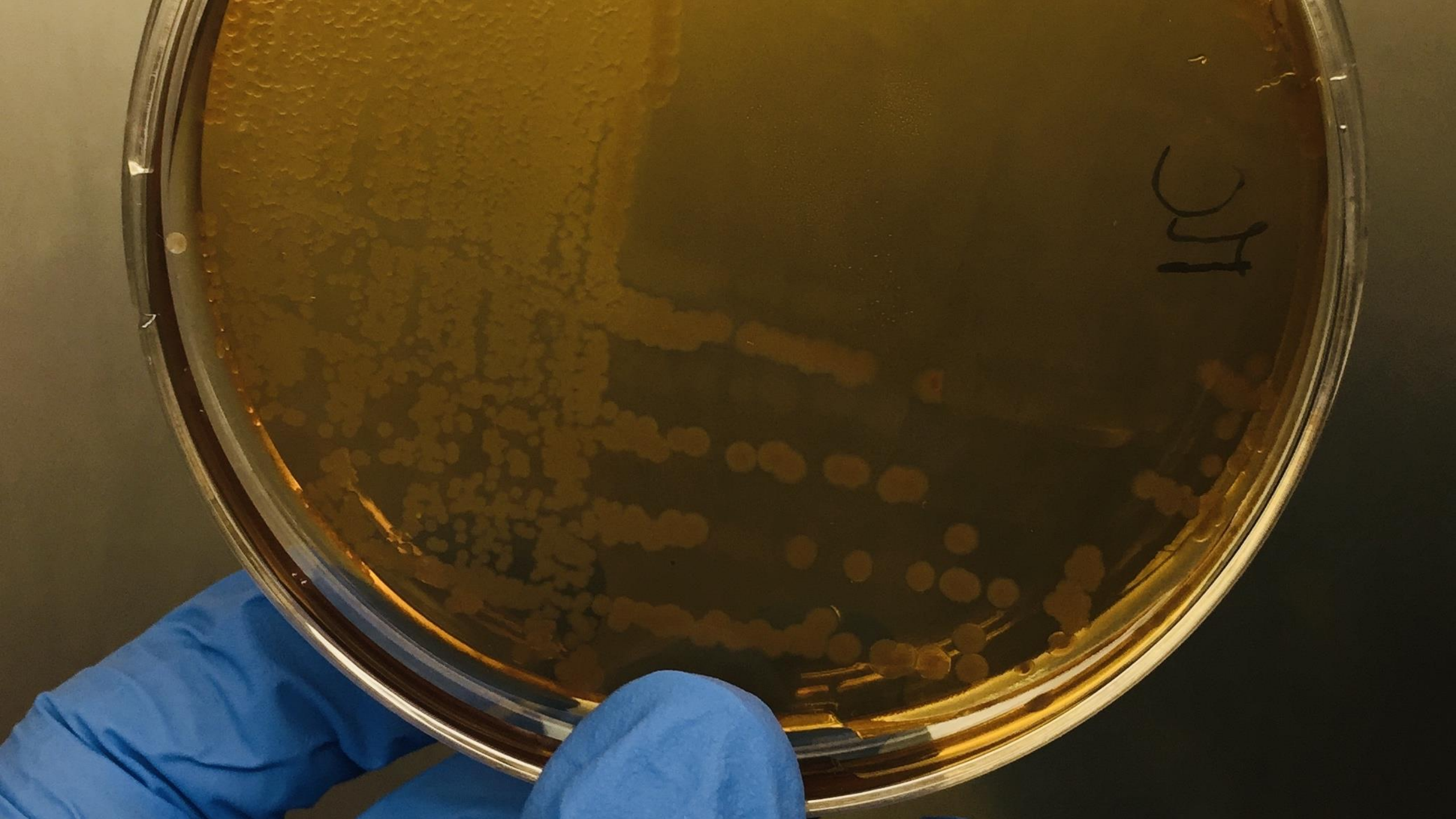
From macro to micro

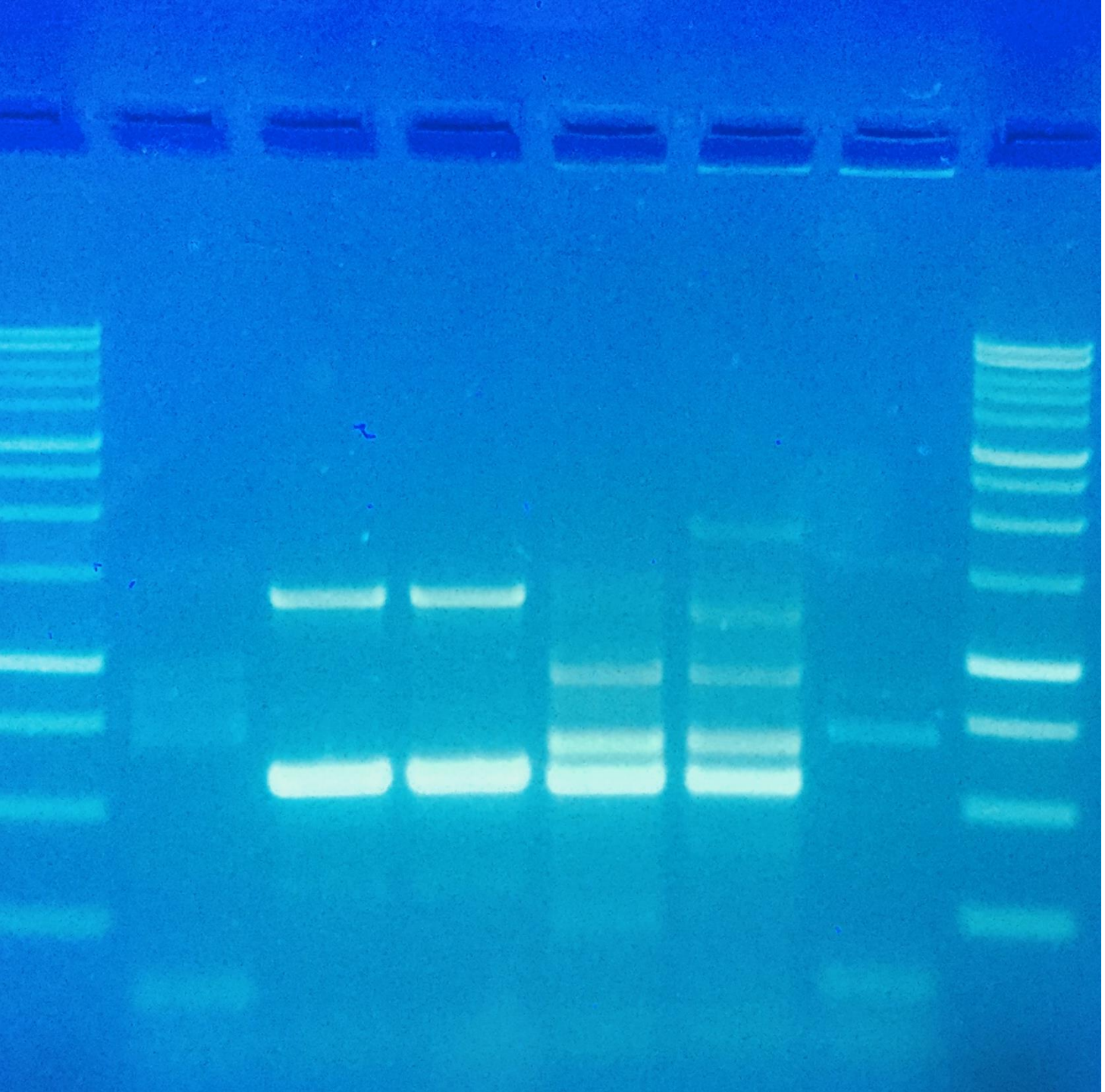

GisA
LM539 539



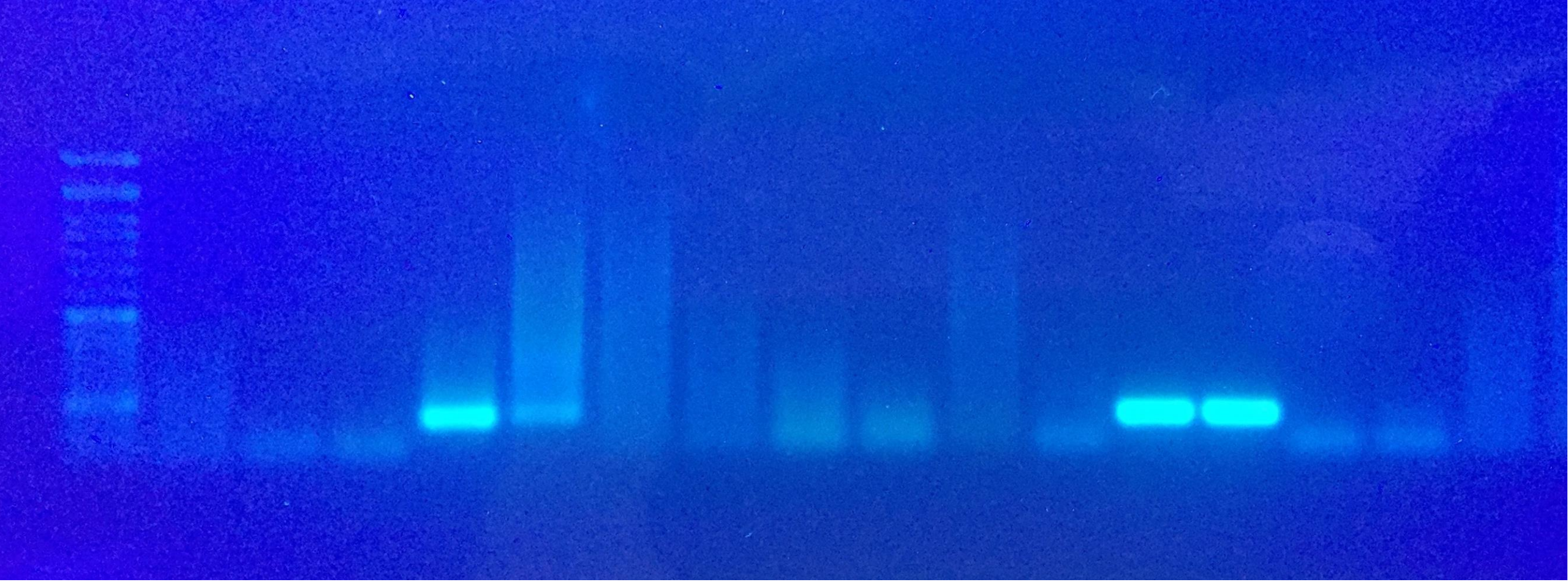



5





Molecular biology assays



Multiplex or uniplex qualitative PCR assays

Risultati delle Prove

	Prova	U.M	Metodo	Risultato
*	**Polifosfati aggiunti**	mg/Kg	Rapporti ISTISAN 1996/34 met. A,B pag. 179	**< 50**
*	Fosforo totale come P	g/100 g	Rapporti ISTISAN 1996/34 met. A,B pag. 179	**0,098**
*	Proteine (N x 6,25)	%	DM 23/07/1994 SO GU n°186 10/08/1994 All pag 5	**17,4**
*	Anidride Fosforica Naturale (Proteine x 0,025)	g/100 g	Rapporti ISTISAN 1996/34 met. A,B pag. 179	**0,44**
*	Anidride Fosforica Totale (P totale x 2,29)	g/100 g	Rapporti ISTISAN 1996/34 met. A,B pag. 179	**0,22**
*	Anidride Fosforica in Eccesso (Anidride Fosforica totola - Anidride Fosforica Naturale)	g/100 g	Rapporti ISTISAN 1996/34 met. A,B pag. 179	**- 0,22**
*	Polifosfati in Eccesso (Anidride Fosforica in eccesso x 1,42)	g/100 g	Rapporti ISTISAN 1996/34 met. A,B pag. 179	**- 0,31**
*	Valutazione Polifosfati Aggiunti		Rapporti ISTISAN 1996/34 met. A,B pag. 179	**Non Calcolabili**
*	Conta dei microrganismi a 15°C	UFC/g	UNI EN ISO 4833-1:2013	**210**
	Conta dei microrganismi a 30°C	UFC/g	UNI EN ISO 4833-1:2013	**600**
*	Conta dei microrganismi a 24°C	UFC/g	UNI EN ISO 4833-1:2013	**Assente**
	Ricerca di Listeria monocytogenes	Pr-As/ 25g	USDA FSIS MLG 8.11.2019 (escluso p.to 8.6.3)	**Assente**
	Ricerca di Salmonella spp	Pr-As/ 25g	UNI EN ISO 6579-1:2020	**< 10**
	Conta di Pseudomonas spp	UFC/g	UNI EN ISO 13720:2010	**< 10**

(*) = Prova non accreditata da Accredia

Atti V Forum Internazionale del Gran Sasso

Presenza di radionuclidi, metalli pesanti e PCB in merluzzo nordico (*Gadus macrocephalus*) salato e disidratato

Autori: Gianluigi Ferri[1*], Carlotta Lauteri[1], Mauro Scattolini[2], Alberto Vergara[1]

[1] Facoltà di Medicina Veterinaria, Scuola di Specializzazione in Ispezione degli Alimenti di Origine Animale "G. Tiecco", Università degli Studi di Teramo.

[2] Medico Veterinario.

*Corresponding author: Gianluigi Ferri

Tabella 1. Presenza di metalli pesanti (media e deviazione standard).

Campioni: n. 50 filetti salati e disidratati di *Gadus macrocephalus*	
Metalli pesanti	**Media & Deviazione standard**
Cd (mg/kg)	0.004±0.007 mg/kg
Hg (mg/kg)	0.078±0.081 mg/kg
Pb (mg/kg)	0.008±0.012 mg/kg

Process’s validation

- From **macro** to **micro**;
- **Food industry**: Food science and **innovation**;
- **Carbon footprint**;
- **ISO 14001:2017**;
- **Sustainability Report**.

Bacterial Strain	Standards	Description
Total Mesophilic Count (TMC)	ISO 4833:20	Microbiology of the food chain—Horizontal method for the enumeration of microorganisms—Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique [17].
Total Psychrophilic Count (TPC)	ISO 17410:2019	Microbiology of the food chain—Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms [18].
Listeria monocytogenes	ISO 11290-1:2017	Horizontal method for the detection and enumeration

	ISO 11290-2:2017	of Listeria monocytogenes and Listeria spp.—Part 1: Detection method; Part 2: Enumeration method [19].

Salmonella spp.	ISO 6579-1:2020 ISO 6579-2:2020	Horizontal method for the detection, enumeration, and serotyping of Salmonella.—Part 1: Detection method; Part 2: Enumeration method [20].
Coagulase-positive staphylococci enumeration	ISO 6888-1:2018	Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species)—Part 1: Method using Baird–Parker agar medium [21].
Pseudomonas spp.	ISO 13720:2010	Enumeration of presumptive *Pseudomonas* spp. [22].
Escherichia coli (positive beta-glucuronidase)	ISO 16649-2:2001	Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli—Part 2: Colony count technique at 44 degrees C using 5 bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide [23].
Total Coliform count	ISO 4832:2006	Horizontal method for the enumeration of coliforms [24].
Enterobacteriaceae count	ISO 21528-2:2017	Horizontal method for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae*- Part 2: Colony count technique [25].
Vibrio cholerae and *V. parahaemolyticus* count	ISO 21872-1:2017	Horizontal method for the determination of Vibrio spp.—Part 1: Detection of potentially enteropathogenic *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio vulnificus* [26].
Total lactic bacterial count	ISO 15214:1998	Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria—Colony count technique at 30 degrees C [27].

Validation processes

foods

MDPI

Article

Shelf Life and Safety of Vacuum Packed HPP-Treated Soaked Cod Fillets: Effects of Salt Content and Multilayer Plastic Film

Gianluigi Ferri [1,*], Carlotta Lauteri [1], Mauro Scattolini [2] and Alberto Vergara [1]

[1] Faculty of Veterinary Medicine, Post-Graduate Specialization School in Food Inspection "G. Tiecco", University of Teramo, Strada Provinciale 18, 64100 Teramo, Italy
[2] Food and Health Veterinarian Consulting, 64015 Nereto, Italy
* Correspondence: gferri@unite.it; Tel.: +39-0861266886

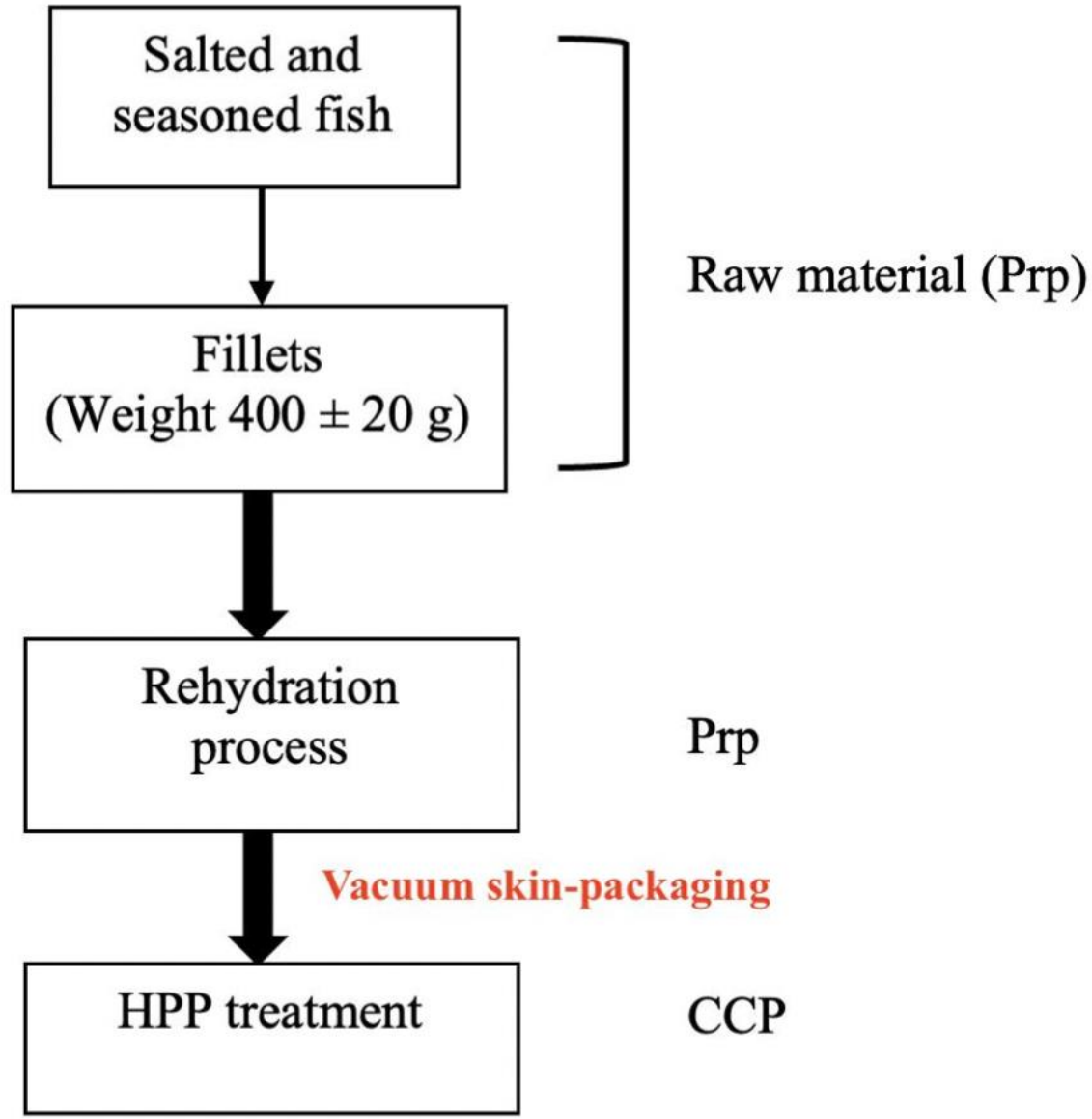


Figure 1. Article flowchart. Prp: prerequisite; CCP: critical control point.

Table 1. Samples included in the present investigation.

Samples	Fish Species	Processed Products
360 fish products	*Gadus macrocephalus*	60 S4
		60 S2
		60 R4
		60 R2
		30 HPP OTR1-4
		30 HPP OTR1-2
		30 HPP OTR2-4
		30 HPP OTR2-2

S4: salted samples (4 kg NaCl/carton); **S2:** salted samples (2 kg NaCl/carton); **R4:** rehydrated samples (4 kg NaCl/carton); **R2:** rehydrated samples (2 kg NaCl/carton). **HPP OTR1-4:** treated product OTR1 packed with salted products transported with 4 kg NaCl/carton. **HPP OTR1-2:** treated product OTR1 packed with salted products transported with 2 kg NaCl/carton. **HPP OTR2-4:** treated product OTR2 packed with salted products transported with 4 kg NaCl/carton. **HPP OTR2-2:** treated product OTR2 packed with salted products transported with 2 kg NaCl/carton.

Table 5. Maximum values and relative limits of microbiological factors obtained from this study.

Microbiological Factors	Obtained Results	Maximum Values
Listeria monocytiogenes	Absence	Absence in 25 g/products (EU Reg. No. 2073/2005)
Salmonella spp.	Absence	Absence in 25 g/products (EU Reg. No. 2073/2005)
Coagulase-positive staphylococci enumeration	Absence	1 log cfu/g [21]
Pseudomonas spp.		
Escherichia coli	Absence	Absence in 25 g/products (EU Reg. No. 2073/2005)
Total colifomr count	Absence	1 log cfu/g [24]
Enterobatteriacea count	Absence	1 log cfu/g [25]
Vibrio cholarae and *V. parahae-molyticus* counts	Absence	<1 log cfu/g [26]
Total lactic bacterial count	< 1 log cfu/g	<1 log cfu/g [27]

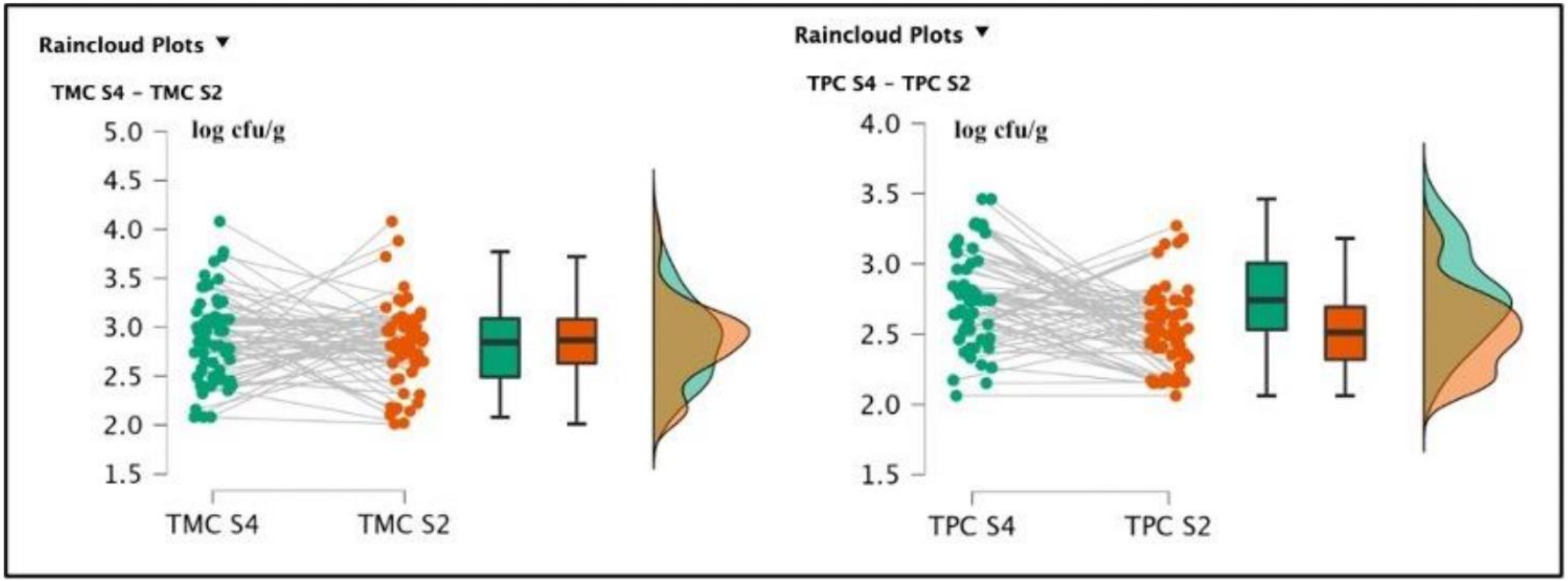


Figure 2. Raincloud plots representing the TMC and TPC of differently salted screened samples. For each graphic, the vertical axes report the calculated bacterial loads, and the horizontal axes indicate the screened TMC (on the left) or TPC (on the right) from the analyzed food matrices (S4–S2).

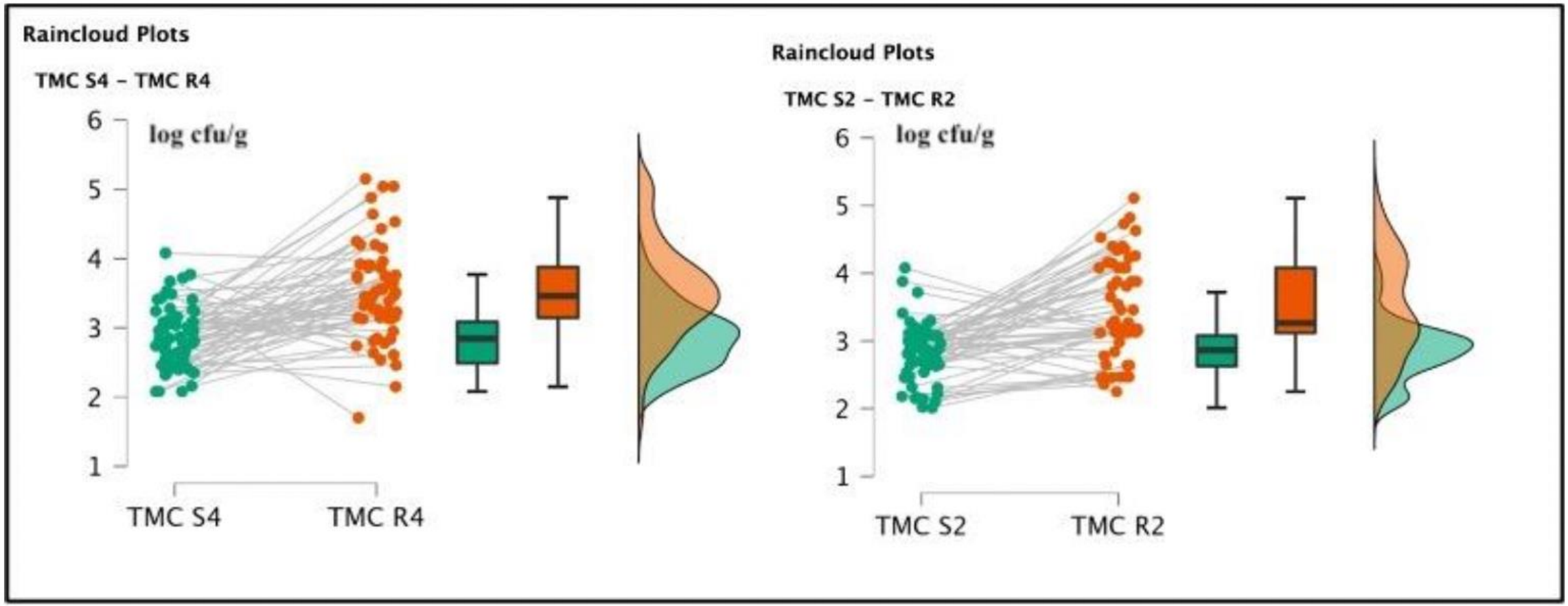


Figure 3. Raincloud plots representing TMC value distributions from differently salted to rehydrated products. For each graphic, the vertical axes report the calculated bacterial loads, and the horizontal axes indicate the screened TMC values from S4–R4 (on the left) and S2–R2 (on the right) analyzed food matrices.

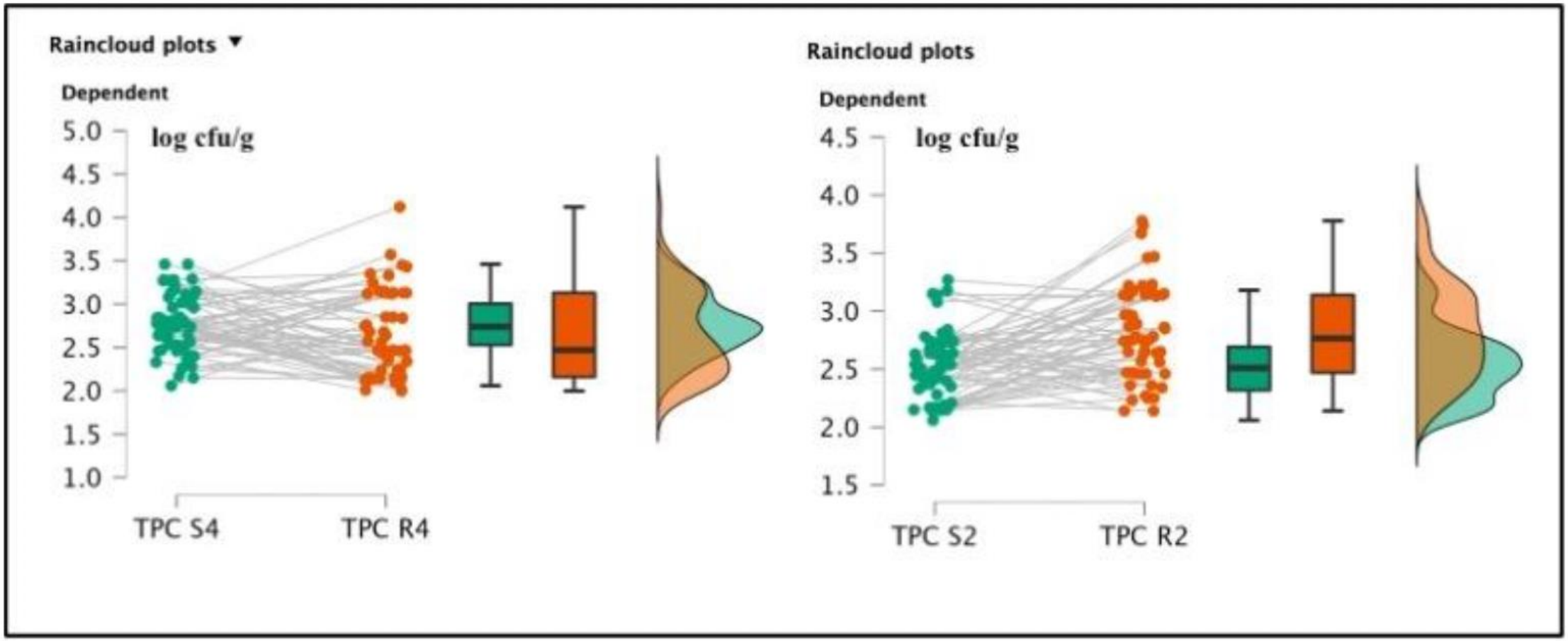


Figure 4. Raincloud plots representing TPC value distributions from differently salted to rehydrated products. For each graphic, the vertical axes report the calculated bacterial loads, and the horizontal axes indicate the screened TPC values from S4–R4 (on the left) and S2–R2 (on the right) analyzed food matrices.

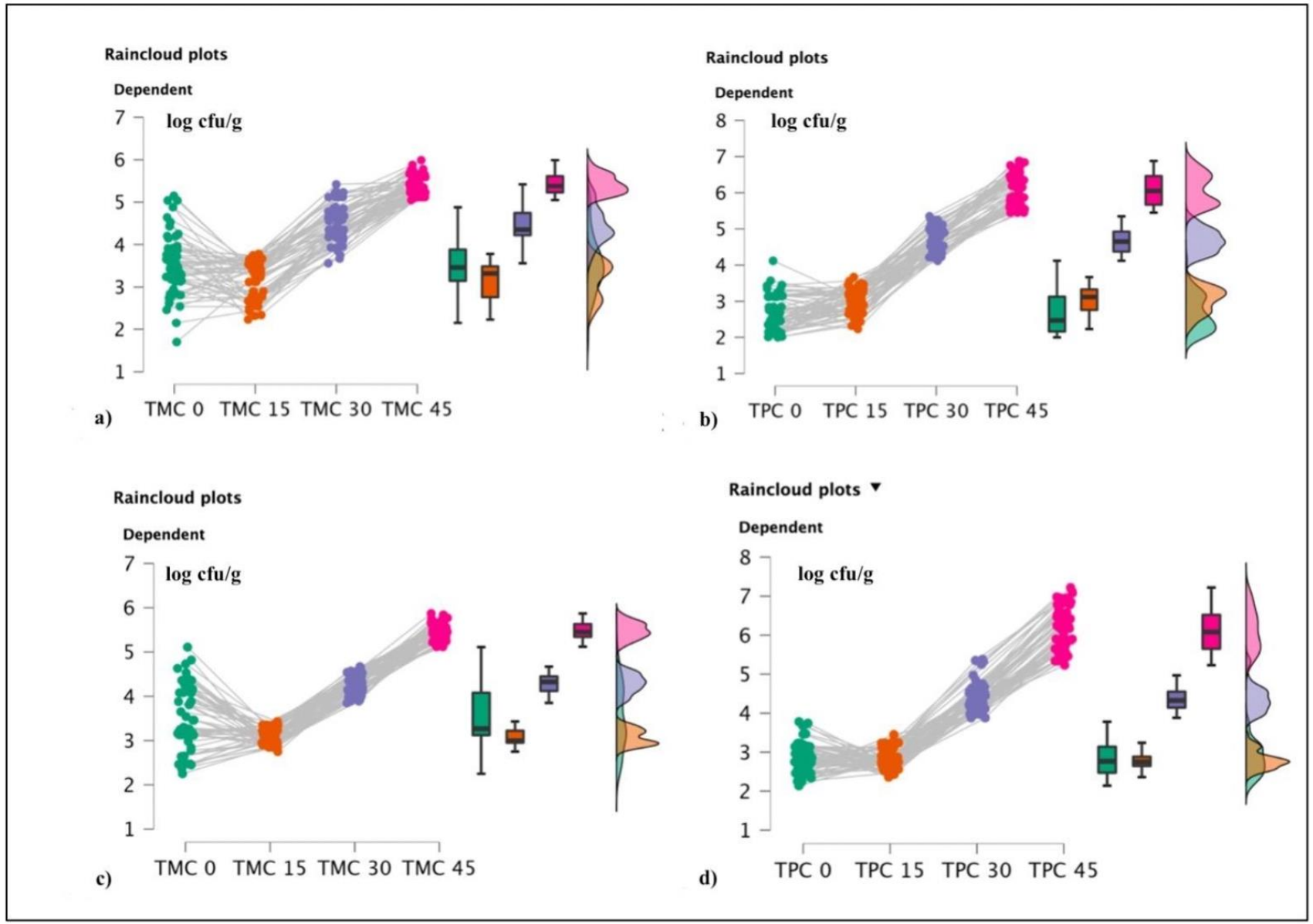


Figure 5. Raincloud plots representing. For each graphic, the vertical axis reports the calculated bacterial loads, and the horizontal axis indicates TMC and TPC values during the shelf life evaluations. More in detail, (**a**) TMC values for OTR1; (**b**) TPC for OTR1; (**c**) TMC for OTR2; and (**d**) TPC for OTR2.

Table 6. Nonparametric statistical (Friedmann and Wilcoxon) results for shelf life evaluation.

Friedmann Test	**Sample Types**		**χ^2**		**df**	**Asymp. Sig.**	
	TMC 4 (t:0–t:45)		153.183		3	<0.001	
	TPC 4 (t:0–t:45)		168.480		3	<0.001	
	TMC 2 (t:0–t:45)		148.820		3	<0.001	
	TPC 2 (t:0–t:45)		162.020		3	<0.001	
Wilcoxon signed-rank tests	**Post hoc comparisons**	**TMC4 t:0–15**	**TMC4 t:0–30**	**TMC4 t:0–45**	**TMC4 t:15–30**	**TMC4 t:15–45**	**TMC4 t:30–45**
	Z	−3.242	−6.088	−6.680	−6.736	−6.681	−6.680
	Asymp. Sig. (2-tailed)	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
	r	0.55	0.78	0.86	0.87	0.86	0.86
	Post hoc comparisons	**TPC4 t:0–15**	**TPC4 t:0–30**	**TPC4 t:0–45**	**TPC4 t:15–30**	**TPC4 t:15–45**	**TPC4 t:30–45**
	Z	−4.814	−6.736	−6.736	−6.737	−6.736	−6.736
	Asymp. Sig. (2-tailed)	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
	r	0.62	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
	Post hoc comparisons	**TMC2 t:0–15**	**TMC2 t:0–30**	**TMC2 t:0–45**	**TMC2 t:15–30**	**TMC2 t:15–45**	**TMC2 t:30–45**
	Z	−3.534	−5.694	−6.736	−6.738	−6.736	−6.736
	Asymp. Sig. (2-tailed)	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
	r	0.46	0.73	0.87	0.87	0.87	0.87
	Post hoc comparisons	**TPC2 t:0–15**	**TPC2 t:0–30**	**TPC2 t:0–45**	**TPC2 t:15–30**	**TPC2 t:15–45**	**TPC2 t:30–45**
	Z	−0.280	−6.736	−6.736	−6.737	−6.736	−6.736
	Asymp. Sig. (2-tailed)	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
	r	0.04	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87

χ^2: chi-squared**; df:** degrees of freedom**; Asymp. sig.:** asymptotic significance**; Z:** statistic value**; r:** statistical effect size**.**

Table 7. Statistical results and respective post hoc inferences concerning TMC values and OTR1–2 packaging.

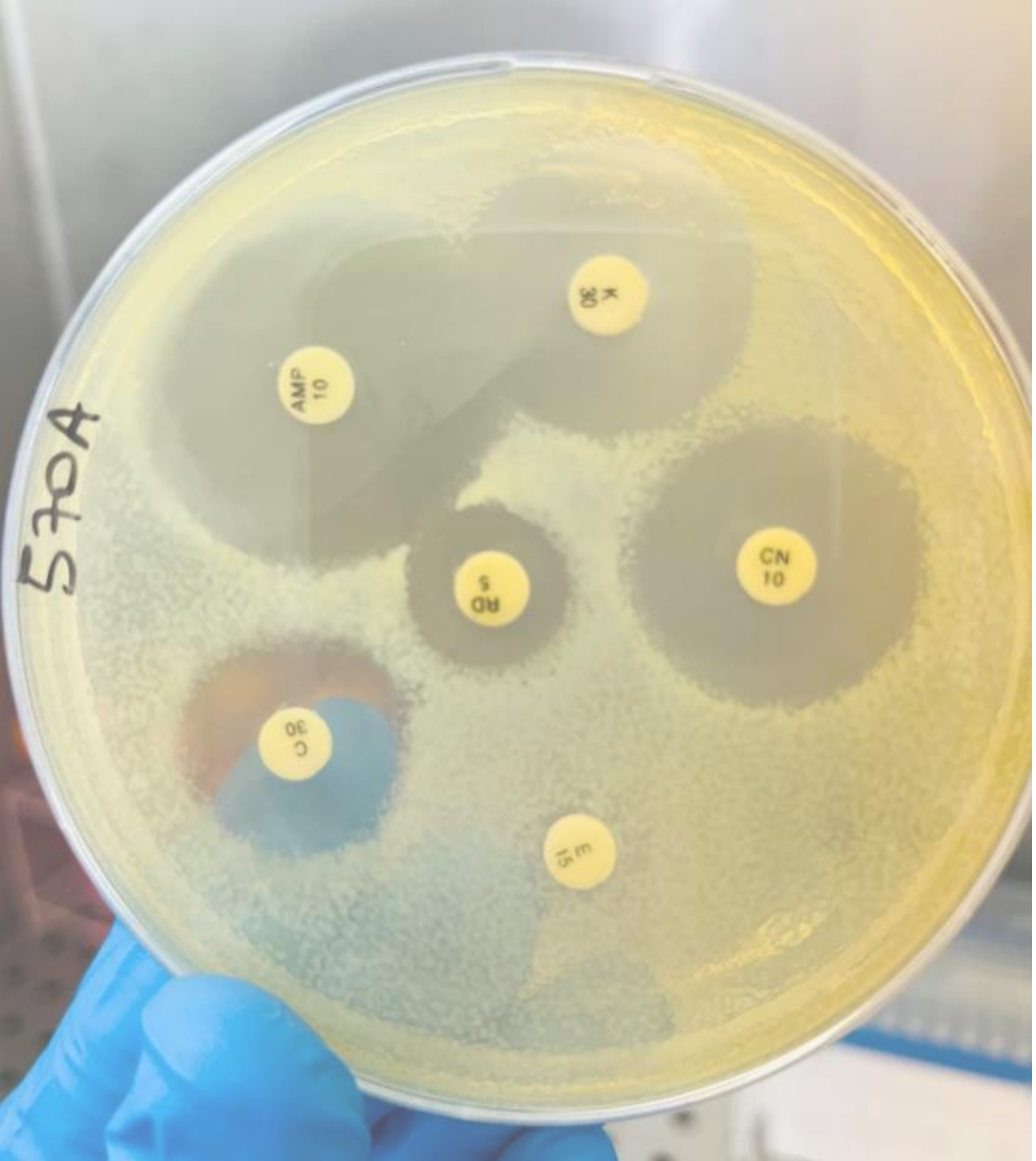
	Sample types		Time	χ^2	df	Asymp. Sig.
Friedmann Test	**OTR1–4; OTR1–2; OTR2–4; OTR2–2**		**t:0**	25.456	3	<0.001
			t:15	46.145	3	<0.001
			t:30	41.010	3	<0.001
			t:45	10.030	3	0.018
Post hoc evaluations	**TMC t:0 OTR1–4 vs. OTR1–2**	**TMC t:0 OTR1–2 vs. OTR2–4**	**TMC t:0 OTR2–4 vs. OTR2–2**	**TMC t:0 OTR1–4 vs. OTR2–4**	**TMC t:0 OTR1–4 vs. OTR2–2**	**TMC t:0 OTR1–2 vs. OTR2–2**
z	−0.714	−1.938	−1.288	−2.996	−4.098	−3.438
Asymp. sig.	0.475	0.053	0.198	0.003	<0.001	<0.001
r	0.08	0.35	0.23	0.55	0.75	0.63
Post hoc evaluations	**TMC t:15 OTR1–4 vs. OTR1–2**	**TMC t:015 OTR1–2 vs. OTR2–4**	**TMC t:15 OTR2–4 vs. OTR2–2**	**TMC t:15 OTR1–4 vs. OTR2–4**	**TMC t:15 OTR1–4 vs. OTR2–2**	**TMC t:15 OTR1–2 vs. OTR2–2**
z	−2.757	−4.783	−4.618	−4.206	−0.951	−1.925
Asymp. sig.	0.006	<0.001	<0.001	<0.001	0.341	0.054
r	0.50	0.87	0.84	0.77	0.17	0.35
Post hoc evaluations	**TMC t:30 OTR1–4 vs. OTR1–2**	**TMC t:30 OTR1–2 vs. OTR2–4**	**TMC t:30 OTR2–4 vs. OTR2–2**	**TMC t:30 OTR1–4 vs. OTR2–4**	**TMC t:30 OTR1–4 vs. OTR2–2**	**TMC t:30 OTR1–2 vs. OTR2–2**
z	−1.341	−4.546	−4.372	−4.659	−3.159	−2.055
Asymp. sig.	0.180	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.040
r	0.24	0.83	0.79	0.85	0.57	0.37
Post hoc evaluations	**TMC t:45 OTR1–4 vs. OTR1–2**	**TMC t:45 OTR1–2 vs. OTR2–4**	**TMC t:45 OTR2–4 vs. OTR2–2**	**TMC t:45 OTR1–4 vs. OTR2–4**	**TMC t:45 OTR1–4 vs. OTR2–2**	**TMC t:45 OTR1–2 vs. OTR2–2**
z	−1.990	−1.008	−0.076	−2.428	−2.613	−1.352
Asymp. sig.	0.047	0.313	0.940	0.015	0.009	0.176
r	0.36	0.18	0.01	0.44	0.47	0.25

χ^2: chi-squared**; df:** degrees of freedom**; Asymp. sig.:** asymptotic significance**; Z:** statistic value**; r:** statistical effect size.

Table 8. Statistical results and respective post hoc inferences concerning TPC values and OTR1–2 packaging.

Friedmann Test	**Sample Types**		**Time**	**χ^2**	**df**	**Asymp. Sig.**
	OTR1–4; OTR1–2; OTR2–4; OTR2–2		**t:0**	21.949	3	<0.001
			t:15	31.455	3	<0.001
			t:30	62.185	3	<0.001
			t:45	72.564	3	<0.001
Post hoc evaluations	**TPC t:0 OTR1–4 vs. OTR1–2**	**TPC t:0 OTR1–2 vs. OTR2–4**	**TPC t:0 OTR2–4 vs. OTR2–2**	**TPC t:0 OTR1–4 vs. OTR2–4**	**TPC t:0 OTR1–4 vs. OTR2–2**	**TPC t:0 OTR1–2 vs. OTR2–2**
z	−0.854	−3.340	−0.444	−2.680	−3.010	−3.436
Asymp. sig.	0.393	<0.001	0.657	0.007	0.003	<0.001
r	0.15	0.61	0.08	0.49	0.55	0.63
Post hoc evaluations	**TPC t:15 OTR1–4 vs. OTR1–2**	**TPC t:015 OTR1–2 vs. OTR2–4**	**TPC t:15 OTR2–4 vs. OTR2–2**	**TPC t:15 OTR1–4 vs. OTR2–4**	**TPC t:15 OTR1–4 vs. OTR2–2**	**TPC t:15 OTR1–2 vs. OTR2–2**
z	−0.465	−4.314	−4.680	−4.105	−0.802	−0.865
Asymp. sig.	0.642	<0.001	<0.001	<0.001	0.422	0.387
r	0.08	0.78	0.85	0.75	0.15	0.15
Post hoc evaluations	**TPC t:30 OTR1–4 vs. OTR1–2**	**TPC t:30 OTR1–2 vs. OTR2–4**	**TPC t:30 OTR2–4 vs. OTR2–2**	**TPC t:30 OTR1–4 vs. OTR2–4**	**TPC t:30 OTR1–4 vs. OTR2–2**	**TPC t:30 OTR1–2 vs. OTR2–2**
z	−4.599	−4.762	−2.561	−4.536	−2.790	−4.705
Asymp. sig.	<0.001	<0.001	0.010	<0.001	0.005	<0.001
r	0.84	0.87	0.47	0.83	0.51	0.86
Post hoc evaluations	**TPC t:45 OTR1–4 vs. OTR1–2**	**TPC t:45 OTR1–2 vs. OTR2–4**	**TPC t:45 OTR2–4 vs. OTR2–2**	**TPC t:45 OTR1–4 vs. OTR2–4**	**TPC t:45 OTR1–4 vs. OTR2–2**	**TPC t:45 OTR1–2 vs. OTR2–2**
z	−1.094	−4.783	−0.720	−4.783	−4.783	−4.783
Asymp. sig.	0.274	<0.001	0.472	<0.001	<0.001	<0.001
r	0.20	0.87	0.13	0.87	0.87	0.87

χ^2: chi-squared**; df:** degrees of freedom**; Asymp. sig.:** asymptotic significance**; Z:** statistic value**; r:** statistical effect size.



New scientific topics at industry level

frontiers

Antibiotic resistance profiles and horizontal genes transmission of isolated bacterial strains in a culture-dependent study at a seafood industry level

Gianluigi Ferri[1*], Carlotta Lauteri[1], Mauro Scattolini[2], Alberto Vergara[1]

[1] Department of Veterinary Medicine, Post-Graduate Specialization School in Food Inspection "G. Tiecco", University of Teramo, Località Piano d'Accio, 64100, Teramo, Italy.

[2]Veterinary practitioner in the Food Safety Sector.

*** Correspondence:**
Gianluigi Ferri
gferri@unite.it

Keywords: Seafood industry, *Gadidae*, Salted and Seasoned Products, Soaked Products, High Pressure Processing, Antibiotic Resistance, Antibiotic Resistance Genes, One-Health.

12 Tables

Table 1. Target genes used for ARGs screening in the present study.

Categories	Target genes	Nucleotide sequences	Amplicons (bp)	References
Aminoglycosides	*aph*A1	F: ATGGGCTCGCGATAATGTC R: CTCACCGAGGCAGTTCCAT	600	Kozak et al., 2009
	*aph*A2	F: GATTGAACAAGATGGATTGC R: CCATGATGGATACTTTCTCG	347	
	*aad*B	F: GAGGAGTTGGACTATGGATT R: CTTCATCGGCATAGTAAAAG	208	
	*aac(3)*IV	F: TGCTGGTCCACAGCTCCTTC R: CGGATGCAGGAAGATCAA	653	
Beta-lactams	bla_{TEM}	F: TCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGA R: ACGCTCACCGGCTCCAGATTTAT	445	Monstein et al., 2007

	bla$_{CTX-M}$	F: GGGCTGAGATGGTGACAAAGAG R: CGTGCGAGTTCGATTTATTCAAC	876	Liao et al., 2021
	bla$_{CIT}$	F: TGGCCAGAACTGACAGGCAAA R: TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	462	Helmy et al., 2014
Carbapenem	*bla*$_{IMP}$	F: GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC R: GGTTTAAYAAAACAACCACC	232	*Hatrongjit et al. 2018
	bla$_{OXA-48-like}$	F: GCGTGGTTAAGGATGAACAC R: CATCAAGTTCAACCCAACCG	438	
	bla$_{NDM}$	F: GGTTTGGCGATCTGGTTTTC R: CGGAATGGCTCATCACGATC	621	
	bla$_{KPC}$	F: CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG R: CTTGTCATCCTTGTTAGGCG	790	
Clindamycin	*erm*A	F: GTTCAAGAACAATCAATACAGGAG R: GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC	421	*Kishk et al., 2020
	*erm*B	F: CCGTTTACGAAATTGGAACAGGTAAAGGGC R: GAATCGAGACTTGAGTGTGC	359	
	*erm*C	F: GCTAATATTGTTTAAATCGTCAATTCC R: GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC	572	
Linezolid	*cfr*	F: TGAAGTATAAAGCAGGTTGGGAGTC R: AACCATATAATTGACCACAAGCAGC	746	*Bender et al., 2019
	*optr*A	F: TACTTGATGAACCTACTAACCA R: CCTTGAACTACTGATTCTCGG	422	
	*poxt*A	F: AAAGCTACCCATAAAATATC R: TCATCAAGCTGTTCGAGTTC	533	
Nitrofurantoin	*nfs*A	F: CTGGCGCTTGCTCTGCTATC R: GCCCGCGTATCATACACTGG	964	García et al., 2017
	*nfs*B	F: ATCACCGTCTCGCTACTCAAC R: CGCGCCATTGATCATTGAGG	921	
Sulfamethoxazole	*sul*1	F: TGGTGACGGTGTTCGGCATTC R: GCGAGGGTTTCCGAGAAGGTG	789	Costa et al., 2008
	*sul*2	F: CGGCATCGTCAACATAACC R: GTGTGCGGATGAAAGTCAG	722	
	*sul*3	F: GAGCAAGATTTTTGGAATCG R: CATCTGCAGCTAACCTAGGGTTTGGA	792	
Tetracycline	*tet*A	F: GGCACCGAATGCGTATGAT R: AAGCGAGCGGGTTGAGAG	480	*Xia et al., 2013
	*tet*C	F: CTGGGCTGCTTCCTAATGC R: AGCTGTCCCTGATGGTCGT	580	
	*tet*M	F: GAGGTCCGTCTGAACTTTGCG R: AGAAAGGATTTGGCGGCACT	915	
	*tet*K	F: TTATGGTGGTTGTAGCTAGAAA R: AAAGGGTTAGAAACTCTTGAAA	382	Gevers et al., 2003
	*tet*L	F: ATAAATTGTTTCGGGTCGGTAAT R: AACCAGCCAACTAATGACAATGAT	1077	Trzcinski et al. 2000

Vancomycin	*van*A	F: GCAAGTCAGGTGAAGATGGA R: GCTAATACGATCAAGCGGTC	171	*Nomura et al. 2018
	*van*B	F: GATGTGTCGGTAAAATCCGC R: CCACTTCGCCGACAATCAAA	271	
	*van*C1	F: GTATCAAGGAAACCTCGCGA R: CGTAGGATAACCCGACTTCC	836	
	*van*C2	F: GCAAACGTTGGTACCTGATG R: GGTGATTTTGGCGCTGATCA	523	
	*van*D	F: TGGAATCACAAAATCCGGCG R: TWCCCGCATTTTTCACAACS	311	
	*van*M	F: GGCAGAGATTGCCAACAACA R: AGGTAAACGAATCTGCCGCT	425	
	*van*N	F: CCTCAAATCAGCAGCTAGTG R: GCTCCTGATAAGTGATACCC	941	

*Multiplex PCR reaction. Thermocycler settings, including annealing, were applied following the respective reference indications. ARGs: Antibiotic resistance genes. Bp: base-pair. F: Froward. R: Reverse.

Table 2. Identified bacterial strains in this research study.

Sources	Total isolates	G+ and G-	Specimen types
450 Fish food matrices	537 strains	331 G+	80 mSD 78 MSD
			73 mSP 65 MSP
			15 mHPP 20 MHPP
		206 G-	60 mSD 57 MSD
			42 mSP 37 MSP
			10 mHPP 0 MHPP
100 Process samples	147 strains	94 G+	62 OH
			32 S
		53 G-	31 OH
			22 S

m: *G. morhua*. M: *G. macrocephalus*. SD: Salted and Seasoned products. SP: Soaked Products HPP: High-Pressure Procedure treated products. OH: Operator hands. S: Surfaces samples.

Table 3. Identified strains belonging to the *Staphylococcus* genus.

Staphylococci strains	Sources								
	Tot.	**mSD**	**mSP**	**mHPP**	**MSD**	**MSP**	**MHPP**	**OH**	**S**
S. aureus	n. 51	n. 7	n. 5	-	n. 12	n. 9	-	n. 10	n. 8
S. sciuri	n. 88	n. 17	n. 10	n. 7	n. 21	n. 7	n. 8	n. 15	n. 3
S. lentus	n. 88	n. 15	n. 21	n. 5	n. 14	n. 13	n. 7	n. 11	n. 2
S. saprophyticus	n. 75	n. 20	n. 12	-	n. 10	n. 18	-	n. 3	n. 12
S. xylosus	n. 5	n. 2	n. 2	-	n. 1	-	-	-	-
S. haemolyticus	n. 2	-	n. 2	-	-	-	-	-	-
S. *simulans*	n. 1	-	n. 1	-	-	-	-	-	-
S. warneri	n. 1	n. 1	-	-	-	-	-	-	-

m: *G. morhua*. M: *G. macrocephalus*. SD: Salted and Seasoned products. SP: Soaked Products. HPP: High-Pressure Procedure treated products. OH: Operator hands. S: Surfaces samples.

Table 4. Identified Gram-negative strains in this research study.

Gram- negative strains	Sources								
	Tot.	**mSD**	**mSP**	**mHPP**	**MSD**	**MSP**	**MHPP**	**OH**	**S**
E. coli	n. 18	n. 8	n. 5	-	n. 3	n. 2	-	-	-
Salmonella serovar. Enteritidis	n. 1	n. 1	-	-	-	-	-	-	-
Cronobacter sakazakii	n. 2	n.1	n.1	-	-	-	-	-	-
Acinetobacter lwofii	n. 62	n.13	n. 6	n. 1	n. 17	n. 15	-	-	n. 10
Sphingomonas paucimobilis	n. 50	n. 12	-	n. 4	n. 10	n. 9	-	n. 15	-
Pseudomonas luteola	n. 41	n. 12	n. 13	-	n. 4	-	-	n. 12	-
Serratia fonticola	n. 37	-	n. 17	-	n. 12	n. 6	-	-	n. 2
Pseudomonas fluorescens	n. 27	n. 8	-	n. 5	n. 7	-	-	-	n. 7
Citrobacter freundii	n.21	n. 5	-	-	n. 4	n. 5	-	n. 4	n. 3

m: *G. morhua*. M: *G. macrocephalus*. SD: Salted and Seasoned products. SP: Soaked Products. HPP: High-Pressure Procedure treated products. OH: Operator hands. S: Surfaces samples.

Table 5. Gram-positive bacterial strains: the phenotypic resistance patterns.

Gram-positive strains	Antibiotic resistances (MIC* values)					
	CLI	**CTX**	**LNZ**	**OXA**	**TET**	**VAN**
S. aureus	37/51** (≥4 µg/mL)	-	13/51** (≥8 µg/mL)	29/51** (≥4 µg/mL)	39/51** (≥16 µg/mL)	5/51** (≥32 µg/mL)
S. sciuri	65/88** (≥4 µg/mL)	3/88** (≥64 µg/mL)	10/88** (≥8 µg/mL)	52/88** (≥4 µg/mL)	73/88** (≥16 µg/mL)	15/88** (≥32 µg/mL)
S. lentus	37/88** (≥4 µg/mL)	-	7/88** (≥8 µg/mL)	69/88** (≥4 µg/mL)	77/88** (≥16 µg/mL)	13/88** (≥32 µg/mL)
S. saprophyticus	32/75** (≥4 µg/mL)	2/75** (≥64 µg/mL)	11/75** (≥8 µg/mL)	49/75** (≥4 µg/mL)	67/75** (≥16 µg/mL)	13/75** (≥32 µg/mL)
S. xylosus	1/5 (≥4 µg/mL)	-	-	-	2/5 (≥16 µg/mL)	-
S. haemolyticus	-	-	-	-	1/2 (≥16 µg/mL)	-
E. faecalis	23/44** (≥4 µg/mL)	-	27/44** (≥8 µg/mL)	-	35/44** (≥16 µg/mL)	17/44** (≥32 µg/mL)
E. durans	5/17** (≥4 µg/mL)	-	4/17** (≥8 µg/mL)	-	9/17** (≥16 µg/mL)	4/17** (≥32 µg/mL)
E. faecium	1/7** (≥4 µg/mL)	-	2/7** (≥8 µg/mL)	-	4/7** (≥16 µg/mL)	1/7** (≥32 µg/mL)
K. kristinae	-	-	-	-	5/24 (≥16 µg/mL)	-
K. varians	-	-	-	-	1/11 (≥16 µg/mL)	-

*MIC: Minimum Inhibitory Concentration.

**MDR: Multidrug resistant strains.

CLI: Clindamycin, CTX: Cefotaxime; LNZ: Linezolid; OXA: Oxacillin; TET: Tetracycline; VAN: Vancomycin.

Table 6. Gram-negative bacterial strains: the phenotypic resistance patterns.

Gram-negative strains	Antibiotic resistances (MIC* values)						
	AMK	**CTX**	**ERP**	**CN**	**MRM**	**NIT**	**SUL**
E. coli	-	6/18** (≥64 µg/mL)	2/18** (≥8 µg/mL)	-	-	2/18** (≥64 µg/mL)	-
Salmonella serovar Enteritidis	1/1 (≥ 64 µg/mL)	-	-	1/1 (≥16 µg/mL)	-	-	-
C. sakazakii	-	1/2 (≥64 µg/mL)	-	-	-	-	-
A. lwofii	8/62 (≥64 µg/mL)	-	-	4/62 (≥16 µg/mL)	-	-	-
S. paucimobilis	-	10/50 (≥64 µg/mL)	-	-	-	-	-
P. luteola	-	9/41** (≥64 µg/mL)	-	-	4/41** (≥16 µg/mL)	4/41** (≥512 µg/mL)	-
S. fonticola	-	4/37 (≥64 µg/mL)	-	-	-	3/37 (≥512 µg/mL)	-
C. freundii	-	1/21 (≥64 µg/mL)	-	-	-	-	1/21 (≥16 µg/mL)

*MIC: Minimum Inhibitory Concentration.

**MDR: Multidrug resistant strains.

AMK: Amikacin; CTX: Cefotaxime; ERP: Ertapenem; CN: Gentamicin; MRM: Meropenem; NIT: Nitrofurantoin; SUL: Sulfamethoxazole.

Bacterial strain	Antibiotics	Resistant strains	rARGs	Susceptible strains	sARGs
S. aureus	AMK	-	-	51/51	12/51 *aac(3)*IV; 5/51 *aph*A1
	CLI	37/51	37/37 *erm*C; 19/37 *erm*B	14/51	4/14 *erm*C
	MRM; ERP	-	-	51/51	7/51 bla_{KPC}; 3/51 bla_{IMP}
	LNZ	13/51	13/13 *cfr*; 4/13 *optr*A; 1/13 *poxt*A	38/51	7/38 *cfr*; 10/38 *poxt*A
	OXA	29/51	29/29 *mec*A	22/51	11/22 *mec*A
	TET	39/51	39/39 *tet*C; 32/39 *tet*K, *tet*L	12/51	10/12 *tet*C; 2/12 *tet*A, *tet*B
	VAN	5/51	5/5 *van*D	-	-
	SUL	-	-	51/51	15/51 *sul*2; 8/51 *sul*3
S. sciuri	CLI	65/88	65/65 *erm*C; 42/65 *erm*B; 17/65 *erm*A	23/88	9/23 *erm*C; 5/23 *erm*B
	CTX	3/88	3/3 bla_{TEM}; 1/3 bla_{CIT}	85/88	17/85 bla_{TEM}; 5/85 bla_{CTX-M}
	LNZ	10/88	10/10 *cfr*; 6/10 *poxt*A	78/88	21/78 *cfr*; 19/78 *optr*A
	OXA	52/88	52/52 *mec*A	36/88	19/36 *mec*A
	TET	73/88	73/73 *tet*C, *tet*K; 25/73 *tet*L	15/88	9/15 *tet*C, *tet*K, *tet*M
	VAN	15/88	15/15 *van*D; 2/15 *van*N	73/88	4/73 *van*D
S. lentus	CLI	37/88	37/37 *erm*C; 12/37 *erm*B	51/88	13/51 *erm*C; 3/51 *erm*B
	LNZ	7/88	7/7 *cfr*; 1/7 *optr*A	81/88	6/81 *cfr*; 1/81 *optr*A
	OXA	69/88	69/69 *mec*A	19/88	5/19 *mec*A
	TET	77/88	77/88 *tet*C, *tet*K; 29/88 *tet*L	11/88	3/11 *tet*C, *tet*M
	VAN	13/88	13/13 *van*D	75/88	-
	SUL	-	-	88/88	4/88 *sul*2; 1/88 *sul*3
S. saprophyticus	CLI	32/75	32/32 *erm*C; 17/32 *erm*B	43/75	5/43 *erm*C
	CTX	2/75	2/2 bla_{TEM}	73/75	-
	LNZ	11/75	11/11 *cfr*	64/75	-
	OXA	49/75	49/49 *mec*A	26/75	11/26 *mec*A
	TET	67/75	67/67 *tet*C, *tet*K; 41/67 *tet*L; 11/67 *tet*M	8/75	8/8 *tet*C; 3/8 *tet*M
	VAN	13/75	13/13 *van*D	62/75	-
S. xylosus	CLI	1/5	1/1 *erm*C	4/5	-
	TET	2/5	2/2 *tet*C, *tet*K, *tet*L	3/5	1/3 *tet*M
S. haemolyticus	TET	1/2	1/2 *tet*C	1/2	-
E. faecalis	AMK	-	-	44/44	5/44 *aph*A1
	CLI	23/44	23/23 *erm*C; 9/23 *erm*B	21/44	5/21 *erm*C
	LNZ	27/44	27/27 *cfr*; 17/27 *optr*A; 6/27 *poxt*A	17/44	9/17 *cfr*; 3/17 *optr*A
	SUL	-	-	44/44	2/44 *sul*2, *sul*3
	TET	35/44	35/35 *tet*C; 17/35 *tet*K, *tet*L; 5/35 *tet*M	9/44	3/9 *tet*C, *tet*M
	VAN	17/44	17/17 *van*D	27/44	-
E. durans	CLI	5/17	5/5 *erm*C	12/17	1/12 *erm*C
	LNZ	4/17	4/4 *cfr*; 2/4 *optr*A, *poxt*A	13/17	5/13 *cfr*
	TET	9/17	9/9 *tet*C, *tet*K, *tet*L, *tet*M	8/17	6/8 *tet*C, *tet*K
	VAN	4/17	4/4 *van*D	13/17	-
E. faecium	CLI	1/7	1/1 *erm*C	6/7	-
	LNZ	2/7	2/2 *cfr*, *optr*A; 1/2 *poxt*A	5/7	-
	TET	4/7	4/4 *tet*C, *tet*L; 1/4 *tet*M	3/7	3/3 *tet*C, *tet*M
	VAN	1/7	1/1 *van*D	6/7	-
K. kristinae	TET	5/24	5/5 *tet*C; 1/5 *tet*K, *tet*L	19/24	7/19 *tet*C
	MRM; ERP	-	-	24/24	3/24 bla_{NDM}
K. varians	TET	1/11	1/1 *tet*C	10/11	4/11 *tet*K, *tet*L

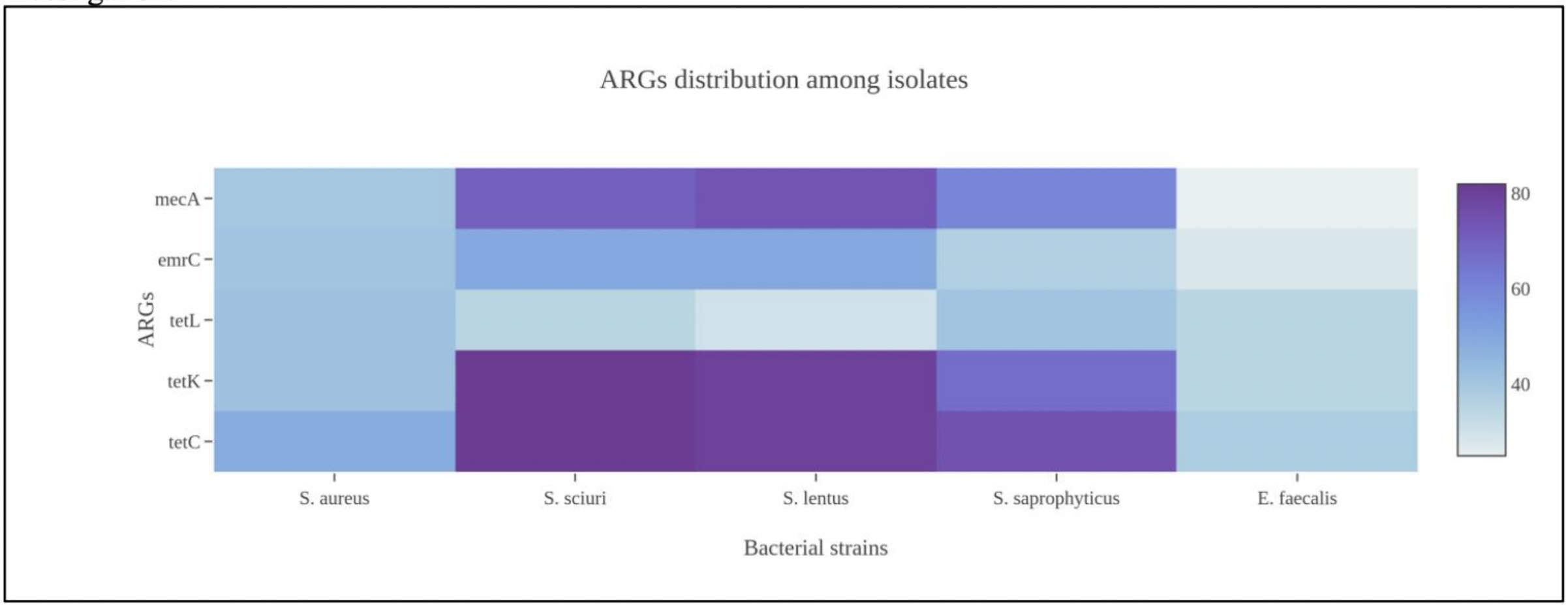
E. coli	CTX	6/18	6/6 *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{CTX-M}$	12/18	7/18 *bla*$_{CIT}$, *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{CTX-M}$
	ERP	2/18	2/2 *bla*$_{IMP}$; *bla*$_{KPC}$; 1/2 *bla*$_{OXA-48-like}$	16/18	5/16 *bla*$_{KPC}$; 3/16 *bla*$_{IMP}$
	NIT	2/18	2/2 *nfs*A, *nfs*B	16/18	-
	SUL	-	-	18/18	4/18 *sul*2
Salmonella serovar. Enteritidis	AMK	1/1	1/1 *aph*A1	-	
	CN	1/1	-	-	
	MRM; ERP	-	-	1/1	1/1 *bla*$_{OXA-48-like}$;
	NIT	-	-	1/1	1/1 *nfs*A, *nfs*B;
	SUL	-	-	1/1	1/1 *sul*2;
	TET	-	-	1/1	1/1 *tet*A, *tet*C, *tet*M
C. sakazakii	CTX	1/2	1/2 *bla*$_{TEM}$	1/2	-
	MRM; ERP	-	-	-	1/2 *bla*$_{IMP}$
A. lwofii	AMK	8/62	8/8 *aph*A1; 3/8 *aac(3)*IV	54/62	-
	CN	4/62		58/62	-
	CTX	-	-	62/62	4/62 *bla*$_{CIT}$, *bla*$_{CTX-M}$
S. paucimobilis	CTX	10/50	10/10 *bla*$_{TEM}$; 4/10 *bla*$_{CIT}$	40/50	-
	MRM; ERP	-	-	50/50	7/50 *bla*$_{KPC}$, *bla*$_{IMP}$
	SUL	-	-	50/50	9/50 *sul*2
P. luteola	CTX	9/41	9/9 *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{CIT}$; 2/9 *bla*$_{CTX-M}$	32/41	-
	MRM	4/41	4/4 blaIMP, *bla*$_{OXA-48-like}$	37/41	-
	NIT	4/41	4/4 *nfs*A, *nfs*B	37/41	-
S. fonticola	CTX	4/37	4/4 *bla*$_{TEM}$; 1/4 *bla*$_{CIT}$	33/37	5/33 *bla*$_{CTX-M}$
	MRM; ERP	-	-	37/37	7/37 *bla*$_{IMP}$
	NIT	3/37	3/3 *nfs*A, *nfs*B	34/37	-

	SUL			37/37	9/37 *sul*2, *sul*3
C. freundii	CTX	1/21	1/21 *bla*$_{TEM}$	20/21	-
	SUL	1/21	1/21 *sul*2, *sul*3	20/21	8/20 *sul*2

rARGs: target genes isolated from resistant strains. sARGs: target genes isolated from susceptible strains.

13 Figure

Figure 1. Heatmap representing ARGs distribution among *Staphylococcus* spp. identified in the present scientific investigation.



Domande ???