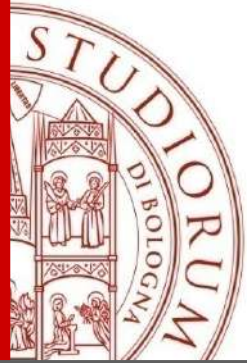


GIORNATA STUDIO SULLE PROBLEMATICHE ATTUALI DEL SETTORE LATTIERO-CASEARIO



**Facoltà di Medicina Veterinaria, Via dell'Università n. 1, Lodi, Aula Magna
Sabato 1 dicembre 2018**

Importanza sanitaria del genere *Arcobacter* nella filiera lattiero casearia



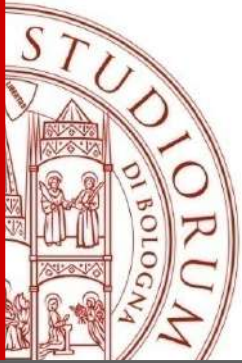
Perché il genere *Arcobacter*...

... perché alcuni suoi membri sono stati considerati
enteropatogeni emergenti e potenziali agenti zoonotici
(ICMSF, 2002; Collado e Figueras, 2011)



**International Commission on
Microbiological
Specifications for Foods (ICMSF)**

«pathogens like *Arcobacter* are still in the dark zone needing immediate attention»



Il genere *Arcobacter*

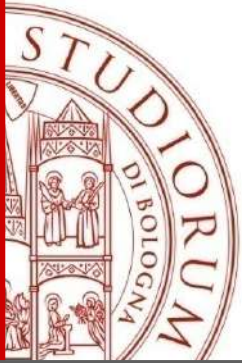
Il primo report di microrganismi ora noti come *Arcobacter* risale al 1977 come isolamento di “Spirillum/*Vibrio*-like organisms” in feti abortiti bovini (Ellis et al., 1977)



*Campylobacter
cryaerophila*

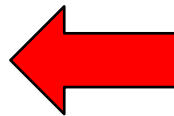
inseriti inizialmente nel genere *Vibrio*,
trasferiti nel genere *Campylobacter*
quale ATIPICO ed ETEROGENEO gruppo di
“**aerotolerant campylobacters**”
a causa della loro abilità di crescita in microaerofilia
o in condizioni di aerobiosi ed anaerobiosi
e a temperature inferiori
(optimum a 30 °C)

**caratteristiche peculiari per la differenziazione da
Campylobacter spp.**



Genus *Arcobacter*

Vandamme et al.,



CAMPYLOBACTER SPP. ATIPICI

1991 and 1992

A. nitrofigilis
A. cryaerophilus

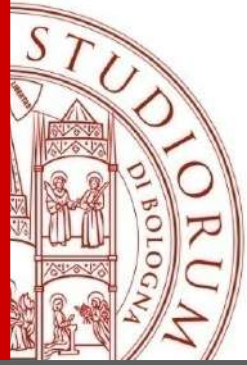
A. butzleri
A. skirrowii

A. cibarius
A. halophilus

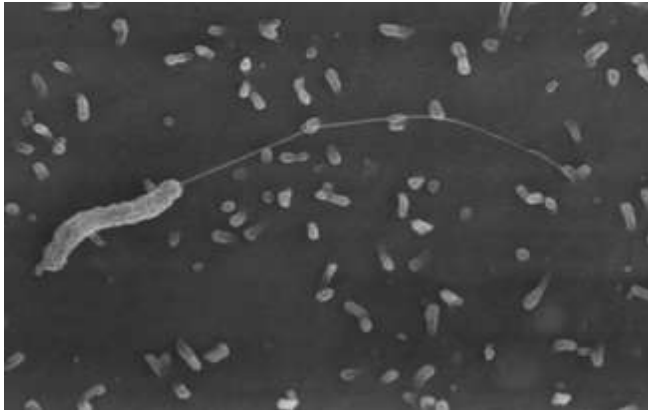
Houf et al. 2005
Donachie et al. 2005



Campylobacter cryaerophila



Arcobacter spp. - Principali caratteristiche



Famiglia *Campylobacteraceae*

bastoncini **Gram negativi**

asporigeni

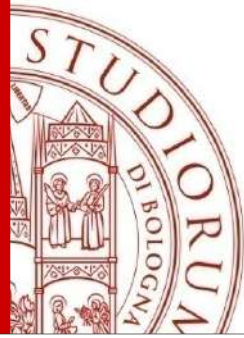
a forma di S o elicoidali,

mobili con un unico flagello polare in una o in entrambe le estremità della cellula

Ad oggi 27 specie,

Ampia diversità di habitat ed ospiti,
e ambienti, spt legati ad ambienti acquatici ed in frutti di mare

tuttavia



Arcobacter: an emerging food-borne zoonotic pathogen, its public health concerns and advances in diagnosis and control – a comprehensive review

Thadiyam Puram Ramees^a, Kuldeep Dhama ^b, Kumaragurubaran Karthik ^c, Ramswaroop Singh Rathore^a, Ashok Kumar^a, Mani Saminathan^b, Ruchi Tiwari^d, Yashpal Singh Malik^e and Raj Kumar Singh^f

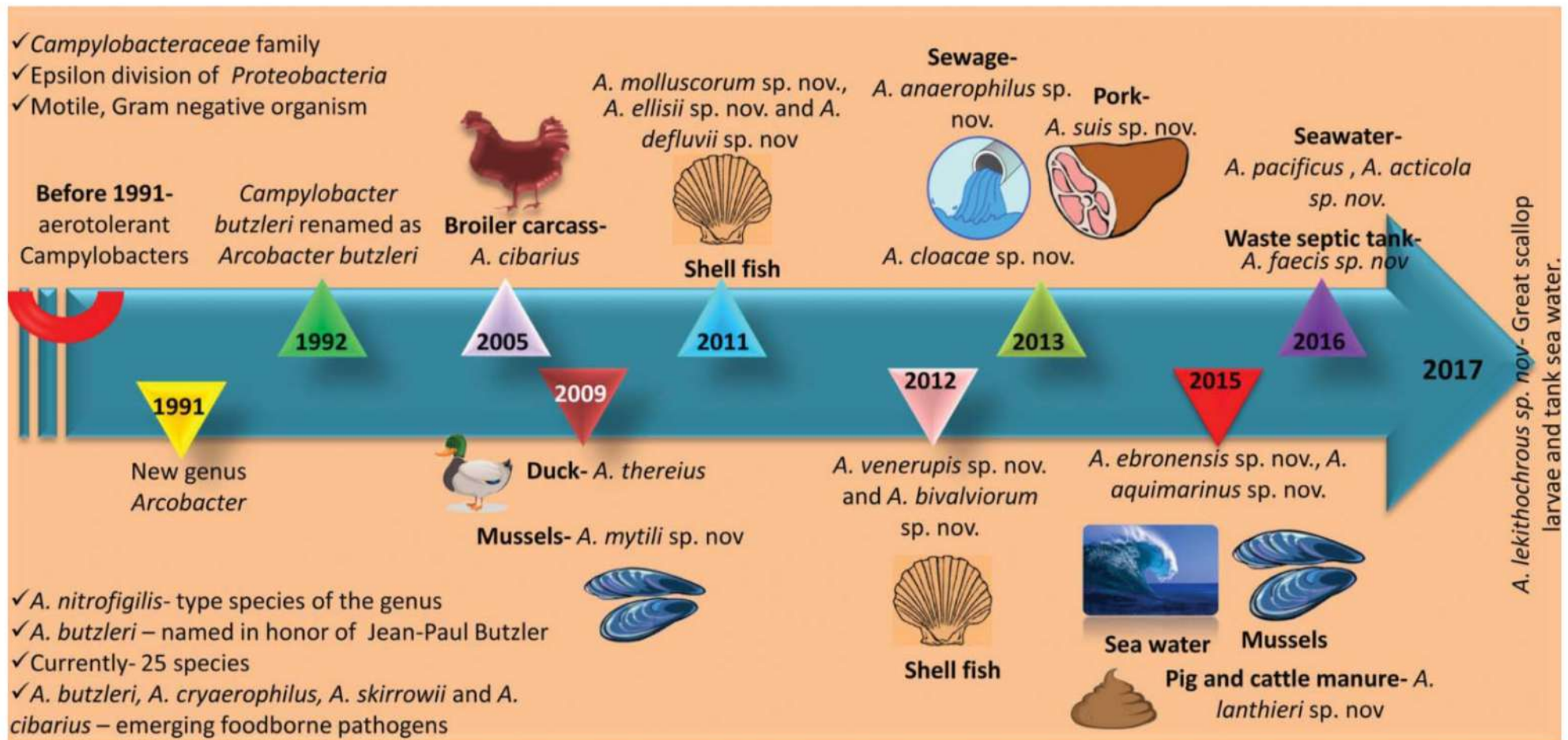
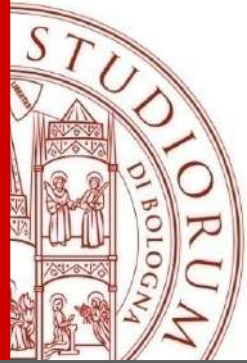


Figure 1. Evolution and emergence of *Arcobacter*. New genus was established in the year 1991. New additions were incorporated over the timeline and currently 25 species are recognized. Some of the members of *Arcobacter* along with the source and year of isolation are depicted in the figure.



Le tre specie *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii*

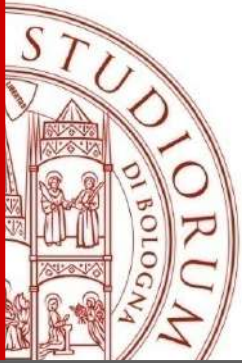
sono quelle prevalentemente associate a condizioni cliniche,
e, in taluni casi, determinano malattia nell'uomo e negli animali

tuttavia

dal momento che questi stessi microrganismi sono presenti anche in soggetti sani,

e non riescono a soddisfare il postulato di Koch

la loro patogenicità è tuttora fonte di dibattito



Arcobacter spp. - Animali



Aborto

bovini, suini, ovini
equini ed alpaca

sia casi isolati che
1 focolaio di aborti ovini da *A. skirrowii*
Bath et al., 2013

A. butzleri

A. cryaerophilus

A. skirrowii

A. thereius

A. porcinus

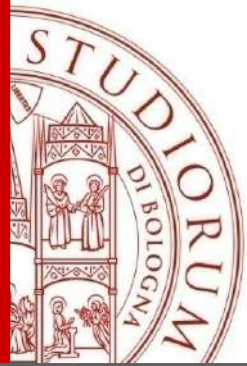


Diarrea



Mastite

**tuttavia tali specie sono
presenti anche in animali sani**



Arcobacter spp. - Animali

Arcobacter spp. sono stati isolati da campioni di latte crudo di vacche che presentavano mastite fiocchi e cellule somatiche molto alte nel latte

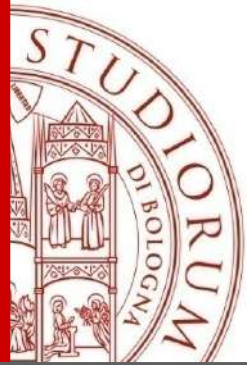


Logan et al. 1982

L'isolato è stato utilizzato per l'**inoculazione sperimentale** di 4 vacche che hanno tutte sviluppato una **mastite clinica** acuta nei quarti inoculati.

- Dopo 4 ore: tutti i quarti inoculati risultavano gonfi, caldi e dolenti; febbre, anoressia;
- Dopo 8 ore: peggioramento sintomatologia;
- Dopo 16 ore: tutti i parametri clinici dell'animale sono ritornati nella norma mentre si è osservata una drastica caduta della produzione (39%) e cellule somatiche molto alte (normali dopo 5 gg);

Tuttavia, poiché tutte queste reazioni sono transitorie, è molto probabile che l'allevatore non associ questi sintomi con la mastite



Arcobacter spp. - Uomo

A. butzleri, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii*

nell'uomo causano **prevalentemente infezioni gastrointestinali**, enteriti, coliti con sintomatologia diarroica, più o meno severa, **ma sono riportati anche casi di batteriemia**, endocardite e peritonite

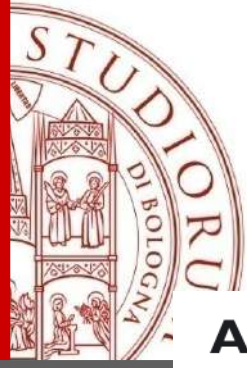
Patologie tratto gastrointestinale



- **Persistente diarrea acquosa (3gg-2 mesi)**
- **Crampi addominali**
- **Abbastanza severa da richiedere ricovero ospedaliero**

Batteriemia

- **Malattia in anziani o malattia cronica**
- **Un caso in un neonato- trasmissione transplacentare**



Arcobacter spp. - Uomo

A severe case of persistent diarrhoea associated with *Arcobacter cryaerophilus* but attributed to *Campylobacter* sp. and a review of the clinical incidence of *Arcobacter* spp.

Prevalence of *Arcobacter* Species among Humans, Belgium, 2008–2013

A. butzleri

focolaio in una scuola italiana con crampi addominali ma no diarrea (Vandamme et al. 1992)

Crampi addominali e diarrea (Lerner et al. 1994)

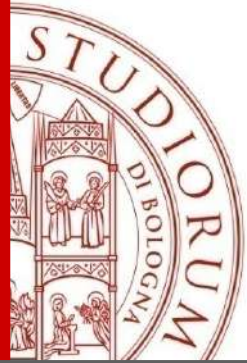
Diarrea acquosa, meno grave di quella da *C. jejuni* (Vandenberg et al. 2004)

In Sud Africa, III ed in Francia e Belgio IV m.o.

simil-*Campylobacter* nelle feci di pazienti umani con diarrea

(Samie et al., 2007; Vandenberg et al.2004; Prouzet-Mauleon et al. 2006)

considerato l'agente eziologico delle "diarree del viaggiatore" USA ed europeo da Guatemala, Messico e India (A.b. 8%) (Jiang et al. 2010; McGregor & Wright 2015)

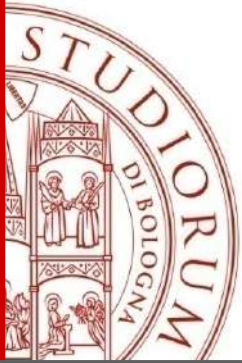


Arcobacter spp. – Vie di trasmissione

Il consumo di **acqua o alimenti contaminati**
PIÙ PROBABILE VIA DI TRASMISSIONE dell'uomo e degli animali
ma anche il contatto con **animali/pets** e la trasmissione **person-to-person**
sono potenziali fattori di rischio per la trasmissione

CONTAMINAZIONE ALIMENTI

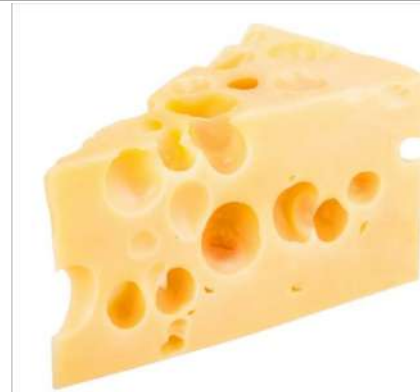
Contaminazione fecale a livello di produzione primaria
superfici di lavorazione con cui vengono a contatto gli alimenti,
rappresentano importanti fonti di contaminazione di *Arcobacter* per l'alimento stesso,
come riportato in **macelli avicoli** (Ferreira et al., 2013; Gude et al., 2005; Houf et al., 2002; Houf et
al., 2003; Son et al., 2006)
ed in **impianti di trasformazione di spinaci** (Hausdorf et al., 2012).



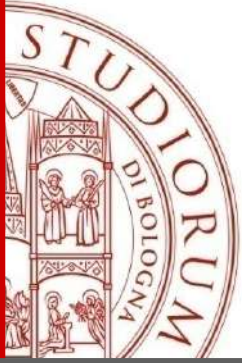
Arcobacter spp.

Latte...e derivati

5.8 - 48%

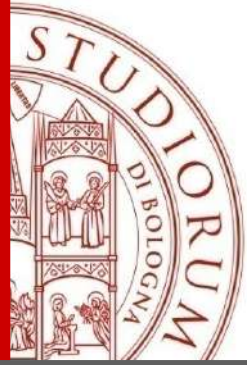


Revez et al., 2013; Sha et al., 2012;
Yesilmen *et al.*, 2014; Ertas et al. 2010;
Scullion, et al. 2006; Milesi, 2010



Le nostre attività di ricerca...

1. Presenza di *Campylobacter* ed *Arcobacter* species nei filtri dell'impianto di mungitura di aziende autorizzate alla produzione e vendita di latte crudo e di una azienda da latte bufalina in Italia
2. Isolamento di *Arcobacter* species in bufale (*Bubalus bubalis*)
3. Circolazione di *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii* in stalla e fonti di contaminazione del latte
4. Presenza e differenza genetica di *Arcobacter butzleri* in un caseificio artigianale in Italia
5. Presenza di *Arcobacter* species in caseifici industriali
6. *Arcobacter butzleri* in ricotta di pecora venduta al dettaglio e relative fonti di contaminazione nel caseificio industriale di produzione
7. Comportamento di *Arcobacter butzleri* e *Arcobacter cryaerophilus* in ricotta artigianale ed industriale



Presence of *Campylobacter* and *Arcobacter* species in in-line milk filters of farms authorized to produce and sell raw milk and of a water buffalo dairy farm in Italy

A. Serraino,¹ D. Florio, F. Giacometti, S. Piva, D. Mion, and R. G. Zanoni

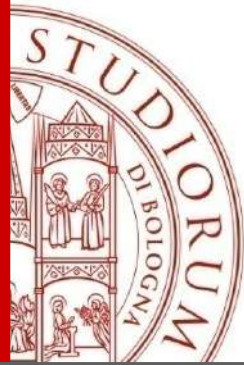
The objectives of this study were to investigate the presence of *Campylobacter* spp. and *Arcobacter* spp. in dairy herds authorized for the production and sale of raw milk and in a water buffalo dairy farm, and to test the antimicrobial susceptibility of the isolates. A total of 196 in-line milk filters were collected from 14 dairy farms (13 bovine and 1 water buffalo) for detection of *Campylobacter* spp. and *Arcobacter* spp. by microbiological culture. For each farm investigated, 1

erythromycin, and gentamicin. A total of 52 isolates were detected in 49 milk filters in 12 farms (85.7%) out of 14 and the isolates were identified as *Campylobacter jejuni* (6), *Campylobacter hyointestinalis* ssp. *hyointestinalis* (8), *Campylobacter concisus* (1), *Campylobacter fetus* ssp. *fetus* (1), *Arcobacter butzleri* (22), and *Arcobacter cryaerophilus* (14). The small number of isolates

14 aziende autorizzate alla produzione e vendita di latte crudo
14 filtri dell'impianto di mungitura per ciascuna azienda—totale 196 filtri

12/14 aziende + (85.7%)
5 per *Campylobacter* spp. (35.7%)
8 per *Arcobacter* spp. (57.1%).

Filtri +
16 *Campylobacter* spp. (8.1%)
36 *Arcobacter* spp. (18.3%).

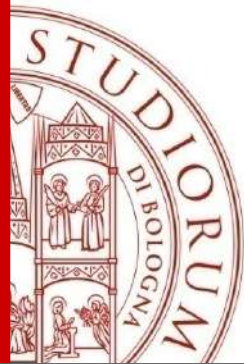


Isolation of *Arcobacter* Species in Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*)

Silvia Piva,¹ Andrea Serraino,¹ Daniela Florio,¹ Federica Giacometti,¹
Frederique Pasquali,² Gerardo Manfreda,² and Renato Giulio Zanoni¹

Abstract

This is the first report of *Arcobacter* spp. in rectal fecal samples from healthy water buffaloes (*Bubalus bubalis*) reared on a dairy farm. *Arcobacter* species were isolated after enrichment, and isolates were identified at species level by multiplex-polymerase chain reaction assay. Thirty samples were examined and *Arcobacter* spp. were isolated from 96.7% of water buffaloes tested: 38 *Arcobacter* spp. isolates were obtained, with *A. cryaerophilus* as the dominant species followed by *A. butzleri* and *A. skirrowii*. Nine animals (31%) were colonized by more than one *Arcobacter* species. The present study indicates that water buffaloes can harbor a variety of *Arcobacter* spp. and that healthy buffaloes may act as hosts. Water buffalo fecal shedding of *Arcobacter* spp. may be of significance to human health, considering the potential fecal contamination during harvesting of raw milk and slaughtering.



Arcobacter butzleri, *Arcobacter cryaerophilus*, and *Arcobacter skirrowii* Circulation in a Dairy Farm and Sources of Milk Contamination

Federica Giacometti,^a Alex Lucchi,^b Antonietta Di Francesco,^a Mauro Delogu,^a Ester Grilli,^a Ilaria Guarniero,^a Laura Stancampiano,^a Gerardo Manfreda,^b Giuseppe Merialdi,^c Andrea Serraino^a

Studio longitudinale: 1 azienda 10 mesi (campionamento una volta al mese)



Piccoli:
25 animali
<2 anni

Ciascun animale è stato campionato
singolarmente
per 5 volte (ogni 2 mesi)
totale 239 campioni

Adulti:
25 animali
>2 anni



E ad ogni campionamento

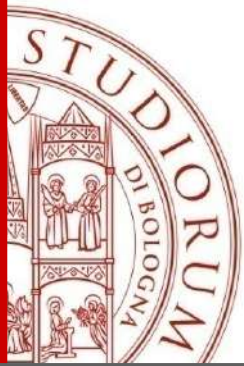
3 campioni di acqua abbeveratoio (30 totali)

2 campioni di mangime (20 totali)

1 campione di latte di massa (10 totali)

50g di feci raccolte direttamente
individualmente dal retto





altri campioni...

campioni di quarto di 20 animali (80 totali)

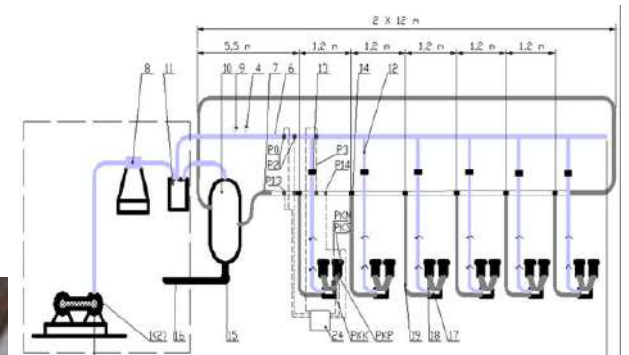
25 tamponi superficie capezzoli di altrettante vacche durante la mungitura

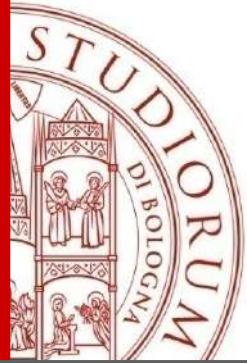
tamponi impianto mungitura (tettarelle)

calzari utilizzati durante la mungitura

Intestino di 47 piccioni

tamponi cloacali e faringei di gatti della stalla





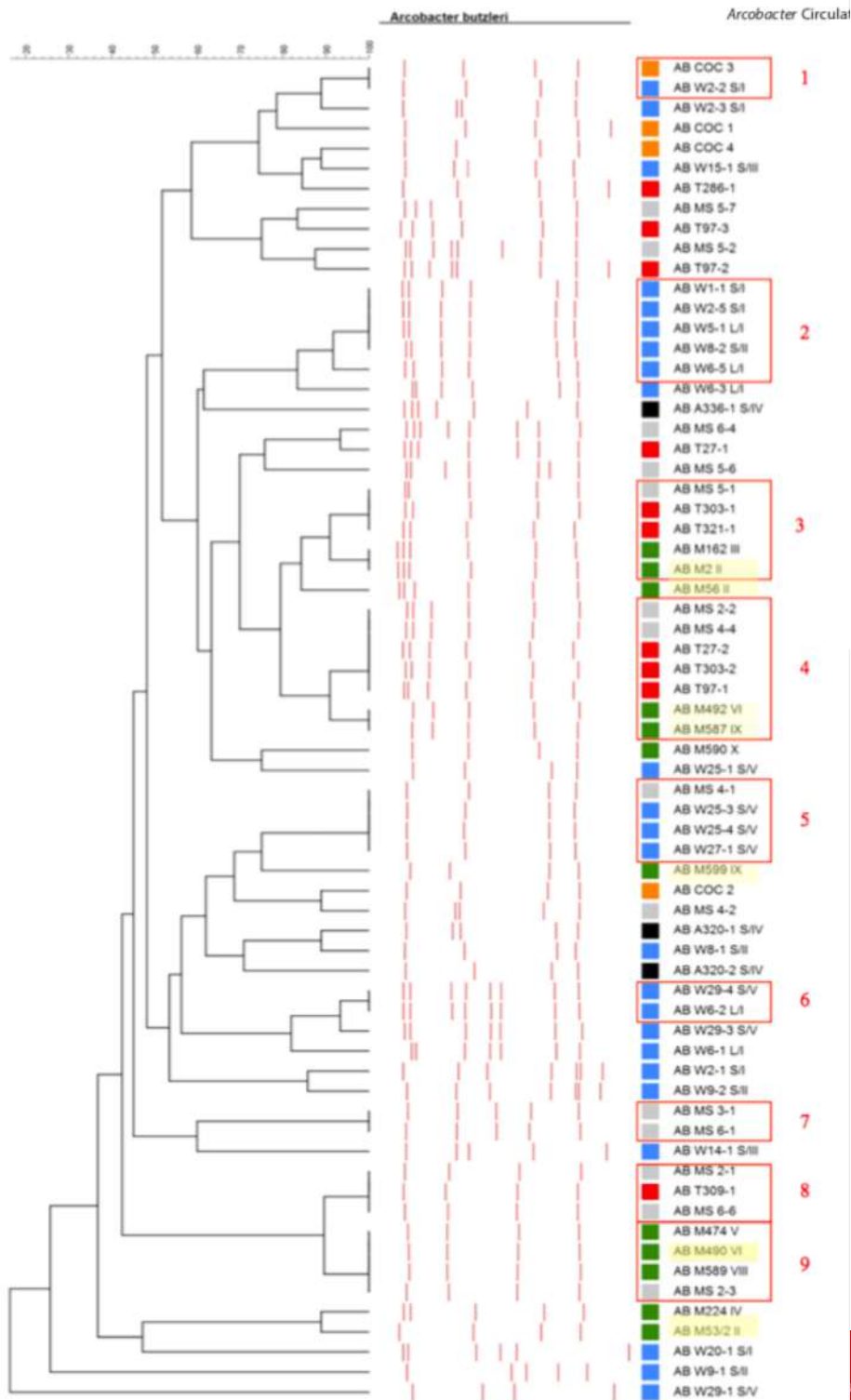
La specie isolata dipende dalla tipologia di campione:
A. cryaerophilus e *A. skirrowii* prevalentemente negli animali e connessi ambienti
 (feci e capezzoli, acqua e alimenti),
 mentre
A. butzleri è l'unica specie isolata nel latte e nell'impianto di mungitura
 anche se viene isolata frequentemente anche in acqua e tettarelle dell'impianto

Differenza statisticamente significativa nella proporzione di animali positivi
 (27.2% giovani versus 13.15% adulti) (P , 0.0099), e una maggiore e significative
 proporzione di animali ripetutamente positivi tra i giovani

TABLE 1 Samples collected during this study and *Arcobacter* species isolated from positive samples

Sample type	Total no. of samples analyzed	No. (%) of samples with:			
		Any <i>Arcobacter</i> spp.	<i>A. butzleri</i>	<i>A. cryaerophilus</i>	<i>A. skirrowii</i>
Feces	239	49 (20.5)	2 (0.8)	31 (12.9)	27 (11.2)
Water	30	24 (80)	12 (40)	19 (63.3)	4 (13.3)
Feed	20	3 (15)	ND ^a	2 (10)	2 (10)
Milk	10	8 (80)	8 (80)	ND	ND
Quarter milk	80	ND	ND	ND	ND
Teats	25	13 (52)	7 (28)	5 (20)	1 (4)
Milking system	6	5 (83.3)	5 (83.3)	ND	ND
Cat	6	3 (50)	3 (50)	ND	ND
Pigeons	47	ND	ND	ND	ND
Total	463	105 (22.67)	37 (7.99)	57 (12.3)	34 (7.3)

^a ND, not detected.

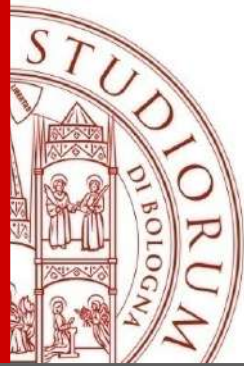


Stessi Pulsotipi
 In latte, impianto di mungitura e tettarelle
 (clusters 3 and 4)
 e in latte e impianto di mungitura (cluster 9).

Tuttavia
 vi sono anche stessi pulsotipi in campioni di latte di
 differenti campionamenti
 come pure
 differenti pulsotipi nello stesso campione di latte

Multiple fonti di contaminazione del latte: l'ambiente
 tende a selezionare *Arcobacter* più resistenti.

Acqua di abbeverata sembra una fonte del m.o.
 I volatili non sembrano una fonte di trasmissione
 I pets si confermano *Arcobacter* spp. carriers



Occurrence and Genetic Diversity of *Arcobacter butzleri* in an Artisanal Dairy Plant in Italy

Federica Giacometti,^a Alex Lucchi,^b Gerardo Manfreda,^b Daniela Florio,^a Renato Giulio Zanoni,^a Andrea Serraino^a

Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Ozzano Emilia, Italy^a; Department of Food Science, University of Bologna, Ozzano Emilia, Italy^b

The present study aimed to investigate the presence, distribution, and persistence of *Arcobacter* spp. in an artisanal dairy plant and to test the isolates to determine their different genotypes in the processing plant and in foods. Samples were collected in an artisanal cheese factory on four occasions between October and December 2012. Food samples (raw milk, ricotta cheese, mozzarella cheese, and conditioning liquid), water samples, and environmental samples were analyzed by the culture method; isolates were identified by multiplex PCR and genotyped by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis. *Arcobacter butzleri* was

TABLE 1 Isolation of *A. butzleri* from different sampling sites in one artisanal cheese factory

Sample location or type	No. of samples analyzed	No. of samples positive for <i>Arcobacter butzleri</i>	% of samples that were positive
Surfaces in contact with product			
Bulk tank valve	4	4	<p><i>A. butzleri</i> viene probabilmente importato nel caseificio con il latte crudo e successivamente si diffonde nei vari ambienti durante le differenti fasi di trasformazione</p>
Milk pump	4	3	
Cheese vat	4	3	
Drainage table	4	2	
Mozzarella cheese molding roller	4	4	
Curd cutter	4	4	
Subtotal	24	16	66.6
Surfaces not in contact with product			
Floor drains	4	4	
Cooler room floor	4	2	
Subtotal	8	6	75
Water			
Tap water	12	0	
Subtotal	12	0	
Food samples			
Raw cow milk	3	3	<p>primo isolamento di <i>A. butzleri</i> In ricotta per la vendita al dettaglio</p>
Raw WB milk	3	3	
Ricotta cheese	3	1	
WB mozzarella cheese	3	0	
Mozzarella cheese conditioning liquid	3	0	
Subtotal	15	7	
Total	59	29	49.5

Arcobacter



Questa ipotesi si basa sulla presenza di:

stesso pulsotipo sia nel latte crudo che in numerosi campioni ambientali (cluster c, e, f, h, i, l, m, e p)

pulsotipi indistinguibili in diversi campionamenti in campioni di latte crudo bufalino, tombino, tavolo di drenaggio della ricotta, rullo formatrice per mozzarella, e pavimento della cella frigo (cluster c , f, h, i, e p)

Pulsotipi indistinguibili in diverse aree di superfici ambientali del caseificio, a contatto o meno con alimenti, in diversi campionamenti a distanza circa 1 mese l'uno dall'altro (clusters a, b, d, g, n e o) dimostra una colonizzazione del caseificio da parte di alcuni ceppi di A. butzleri e la loro persistenza e distribuzione in differenti siti.

Arcobacter

Due principali fonti di contaminazione nel caseificio:
il latte crudo contaminato
e ceppi residenti in grado di colonizzare il caseificio stesso

Alcuni ceppi di *A. butzleri* sono solo parzialmente affetti dalle procedure di pulizia e disinfezione

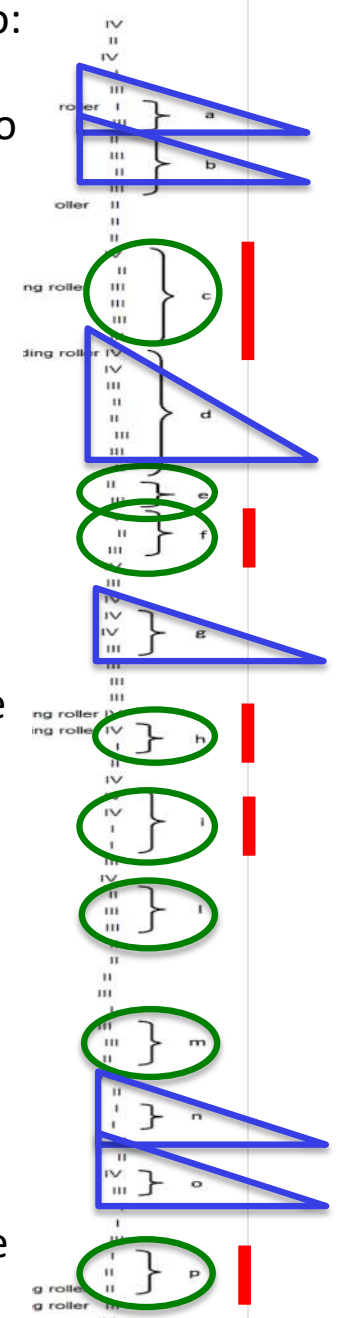
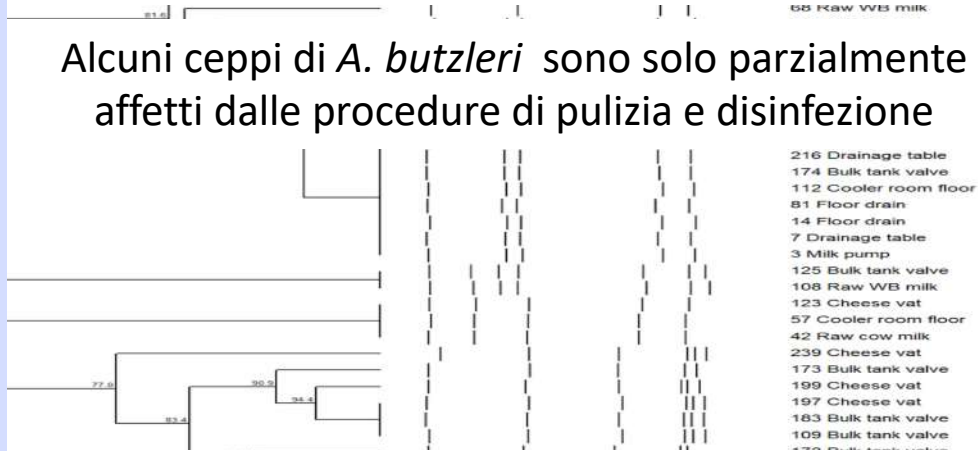
L'isolamento di *A. butzleri* nella **ricotta** conferma che i prodotti lattiero-caseari quali potenziale fonte di infezione umana.

Tale contaminazione è di particolare interesse per la sicurezza alimentare, dato il suo pH vicino alla neutralità (6,80 nel caseificio preso in considerazione), e l'assenza di ulteriori trattamenti con effetto antimicrobico.

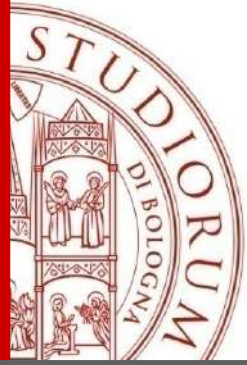
Una **contaminazione postprocesso** è la più probabile fonte di contaminazione della ricotta.

N of isolates Source

Sampling Cluster



53/2 Raw cow milk
39 Raw WB milk
A.Butzleri DSM 8739



J. Dairy Sci. 97:1–5

<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7682>

© American Dairy Science Association®, 2014.

Short communication: Occurrence of *Arcobacter* species in industrial dairy plants

A. Serraino and F. Giacometti¹

Department of Veterinary Medical Sciences, Via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano Emilia (BO), Italy

Il presente studio ha indagato la presenza di *Arcobacter* spp. in tre caseifici industriali, ubicati in tre diverse Regioni italiane.

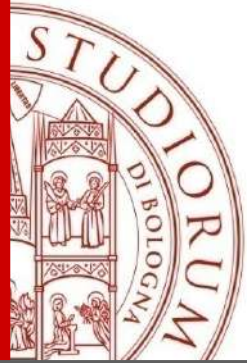
Tutti gli impianti lavorano esclusivamente latte vaccino per la produzione di formaggi (mozzarella, stracchino e ricotta):
la quantità di latte trasformata quotidianamente in prodotti lattiero caseari si aggira da un minimo di 180.000 Kg a 445.000 Kg.

Arcobacter spp. sono stati isolati in tutti gli stabilimenti indagati ed in ogni campionamento effettuato.

A. butzleri è stata la specie più frequentemente isolata, in 21 dei 22 campioni risultati positivi
135 isolati *A. butzleri* (n=129) e *A. cryaerophilus* (n=6).

Data	Stabilimento	Tipologia di campione (n)	N di campioni positivi (%)	Descrizione del numero (n) di campioni positivi e della specie isolata						
				<i>A. butzleri</i>	<i>A. cryaerophilus</i>	<i>A. butzleri</i> and <i>A. cryaerophilus</i>				
20/02/2013	Stabilimento1 linea A*	Superfici a contatto con alimenti (9)	2 (22%)	Nastro trasportatore cagliata (1); Impianto di taglio della cagliata (1) Tombino (1); Attrezzi pulizia pavimento (1)						
		Superfici non a contatto con alimenti (5)	2 (40%)							
		Alimenti (5)	0							
		Tamponi Toilet (2)	0							
10/04/2013	Stabilimento1 linea A*	Acqua di lavorazione (3)	0			Vasca (1)				
		Latte pastorizzato (3)	0							
	Superfici a contatto con alimenti (4)	1 (25%)								
	Superfici non a contatto con alimenti (5)	0								
	Stabilimento1 linea B**	Alimenti (4)	0							
		Acqua di lavorazione (3)	0							
Latte pastorizzato (3)		0								
Superfici a contatto con alimenti (4)		1 (25%)								
03/06/2013	Stabilimento2	Superfici non a contatto con alimenti (6)	1 (17%)	Formatrice (1) Porta di accesso (1)						
		Alimenti (1)	0							
		Acqua di lavorazione (3)	0							
		Latte pastorizzato (3)	0							
		Stabilimento3	Superfici a contatto con alimenti (19)				4 (21%)	Rullo stampi (1); Confezionatrice (1)	Vasca rassodamento (1)	Nastro trasportatore cagliata (1)
			Superfici non a contatto con alimenti (11)				5 (45%)			
Alimenti (6)	0									
Acqua di lavorazione (3)	0									
19/09/2013	Stabilimento3	Latte pastorizzato (3)	0	Impianto taglio cagliata (1); nastro trasportatore cagliata (1) Tombino (3); Calzari (1)						
		Superfici a contatto con alimenti (8)	2 (25%)							
		Superfici non a contatto con alimenti (4)	4 (100%)							
		Alimenti (9)	0							

A. butzleri e *A. cryaerophilus* non vengono del tutto eliminati con le operazioni di pulizia e sanificazione adottate negli stabilimenti (CIP e manuale).



Applied and Environmental
Microbiology

Arcobacter butzleri in Sheep Ricotta Cheese at Retail and Related Sources of Contamination in an Industrial Dairy Plant

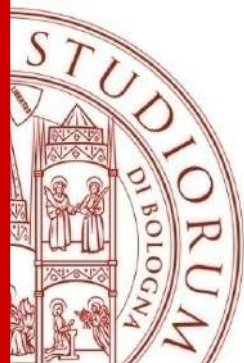
Christian Scarano, Federica Giacometti, Gerardo Manfreda,
Alex Lucchi, Emanuela Pes, Carlo Spanu, Enrico Pietro
Luigi De Santis and Andrea Serraino

Il presente studio si propone di valutare la presenza di *Arcobacter* spp. in campioni di **ricotta ovina** acquistati al dettaglio (Sassari, Sardegna) e di stabilire se gli ambienti e le superfici di lavoro del **caseificio di produzione** possano rappresentare o meno una probabile fonte di contaminazione del prodotto.

Sette campioni (da R1 a R7) su 32 (21,9%) di ricotta campionata presso i punti vendita sono risultati positivi per *A. butzleri*; tutti i campioni positivi provengono dal primo di quattro campionamenti ed appartenevano alla stessa partita.

Ciò indica che **alcuni lotti di produzione, o almeno una parte di alcuni lotti di produzione, possono essere ampiamente contaminati.**

Tutte le aree del caseificio industriale, tranne il tunnel di raffreddamento, sono risultate positive per *A. butzleri*.



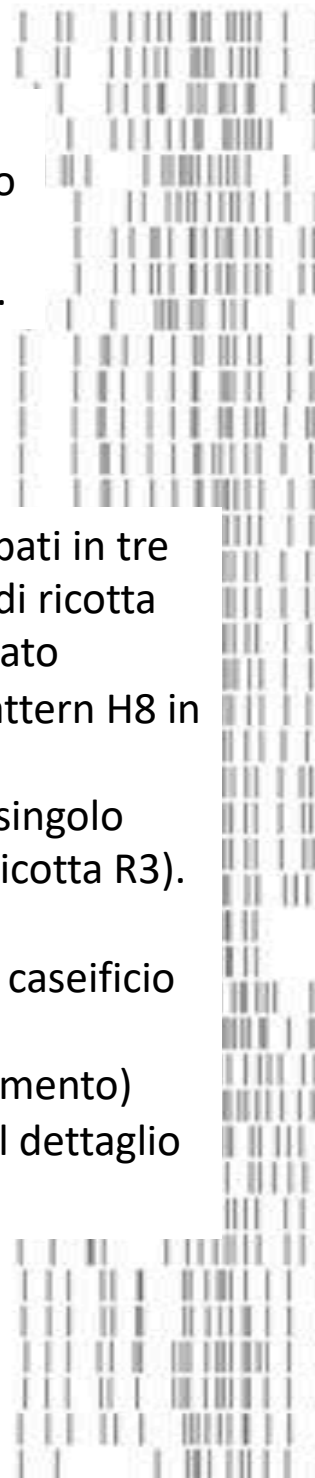
Area campionata	Campionamento	Superfici non a contatto con gli alimenti	Superfici a contatto con gli alimenti	Risultati Quantitativi
		No. campioni analizzati/ No. e tipologia dei campioni positivi per <i>A. butzleri</i>	No. campioni analizzati/ No. e tipologia dei campioni positivi per <i>A. butzleri</i>	
Produzione	I	3/2 (Pavimento e Tombino)	1/0	Pavimento: 0.9 CFU/cm ² ; Tombino: 12 CFU/cm ²
	II	3/2 (Tombino e Parete*)	1/1 (Carrello)	Tombino: 0.9 CFU/cm ² ; Carrello: 22 CFU/cm ²
Tunnel di raffreddamento	I	3/0	1/0	
	II	3/0	1/0	
Tunnel di raffreddamento	I	3/0	1/0	
	II	3/2 (Pavimento e Tombino*)	1/0	Pavimento: 89 CFU/cm ²
Confezionamento	I	2/1 (Pavimento*)	1/0	
	II	2/2 (Pavimento * e Tombino*)	1/0	
Totale		22/9	8/1	

* = campioni positivi all'arricchimento ma negativi alla semina diretta

Questo studio è il primo report di *A. butzleri* in ricotta di pecora industriale acquistata al dettaglio e la prima quantificazione della contaminazione ambientale di *A. butzleri* in un caseificio industriale.

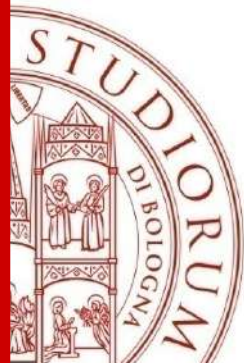
Cinque profili di PFGE (g, h5, h8, j1 e j2) raggruppati in tre PFGE clusters sono stati identificati negli isolati di ricotta mentre lo stesso PFGE pattern è stato isolato in più di un campione ricotta (ad esempio PFGE pattern H8 in ricotta R5 e R6), e più di un PFGE pattern è stato isolato in un singolo campione (ad esempio, PFGE patterns h5 e j2 in ricotta R3).

Indistinguibili PFGE patterns sono stati isolati nel caseificio industriale (tombino campionato nella zona di confezionamento) e in due campioni di ricotta (R2 e R3) acquistati al dettaglio (pattern h5).



AB 38 Ed-Floor I Kpnl	a1
AB 39 Ed-Floor I Kpnl	a2
AB 64 Ea-Wall II Kpnl	b
AB 40 Ed-Floor I Kpnl	c
AB 74 Ed-Floor II Kpnl	d
AB 41 Ea-Floor drain II Kpnl	e
AB 53 Ea-Floor drain II Kpnl	f1
AB 52 Ec-Floor II Kpnl	f1
AB 1 R1-I Kpnl	g
AB 35 Ea-Floor drain I Kpnl	h1
AB 49 Ec-Floor II Kpnl	h1
AB 48 Ec-Floor II Kpnl	h2
AB 72 Ec-Floor drain II Kpnl	h3
AB 31 Ea-Floor I Kpnl	h4
AB 63 Ea-Wall II Kpnl	h4
AB 5 R2-I Kpnl	h5
AB 77 Ed-Floor drain II Kpnl	h5
AB 10 R3-I Kpnl	h5
AB 70 Ec-Floor drain II Kpnl	h6
AB 80 Ed-Floor drain II Kpnl	h6
AB 54 Ea-Floor drain II Kpnl	h7
AB 17 R5-I Kpnl	h8
AB 20 R6-I Kpnl	h8
AB 21 R6-I Kpnl	h8
AB 59 Ea-Trolley II Kpnl	i
AB 15 R4-I Kpnl	j1
AB 12 R3-I Kpnl	j2
AB 24 Ea-Floor I Kpnl	k
AB 58 Ea-Trolley II Kpnl	l
AB 32 Ea-Floor I Kpnl	m1
AB 30 Ea-Floor I Kpnl	m2
AB 25 Ea-Floor drain I Kpnl	n1
AB 42 Ea-Floor drain II Kpnl	n2
AB 66 Ec-Floor II Kpnl	o1
AB 71 Ec-Floor drain II Kpnl	o1
AB 37 Ea-Floor drain I Kpnl	p1
AB 28 Ea-Floor drain I Kpnl	p2
AB 26 Ea-Floor drain I Kpnl	p3
AB 34 Ea-Floor drain I Kpnl	p4
AB 27 Ea-Floor drain I Kpnl	q
AB 36 Ea-Floor drain I Kpnl	r





J. Dairy Sci. 98:6776–6781

<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9560>

© American Dairy Science Association®, 2015.

Short communication: *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* survival and growth in artisanal and industrial ricotta cheese

F. Giacometti,*¹ M. N. Losio,† P. Daminelli,† E. Cosciani-Cunico,† E. Dalzini,† and A. Serraino*

*Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Ozzano Emilia, 40064 Bologna, Italy

†Experimental Institute for Zooprophyllaxis in Lombardy and Emilia Romagna, 25124 Brescia, Italy

Ricotta è un ready-to-eat
con caratteristiche di pH >6.0 e a_w >0.98–0.99 e umidità (75–80%)
che lo rendono un prodotto a rischio
eventuali contaminazioni post-processo da parti di numerosi mo., tra i quali *Arcobacter*

Inoculo sperimentale a 6 e a 12 °C
Ricotta artigianale di bufala 5 gg di shelf life
Ricotta industriale vaccina 22 gg shelf life

Table 1. Evolution of *Arcobacter butzleri* (log cfu/g), lactic acid bacteria (LAB) count (log cfu/g), and pH during storage of water buffalo artisanal ricotta cheese stored at 6°C and 12°C¹

Day	Storage at 6°C				Storage at 12°C		
	<i>A. butzleri</i>	pH	LAB		<i>A. butzleri</i>	pH	LAB
0	4.66 ± 0.13	6.19 ± 0.06	<30 (cfu/g)		4.27 ± 0.13	6.12 ± 0.02	<30 (cfu/g)
1	4.65 ± 0.10	6.23 ± 0.04	<30 (cfu/g)	↑	5.82 ± 1.00	6.21 ± 0.02	3.46 ± 0.44
2	4.61 ± 0.18	6.20 ± 0.03	<30 (cfu/g)		6.15 ± 0.26*	6.19 ± 0.04	4.54 ± 1.47*
3	4.71 ± 0.28	6.23 ± 0.04	<30 (cfu/g)		7.18 ± 0.15*	6.15 ± 0.05	6.59 ± 2.07*
4	4.68 ± 0.11	6.24 ± 0.04	<30 (cfu/g)		7.46 ± 0.12*	5.70 ± 0.27	8.25 ± 1.27*
5	4.67 ± 0.18	6.27 ± 0.03*	2.17 ± 0.17*		8.03 ± 0.26*	5.21 ± 0.34*	9.24 ± 0.32*

¹Data represent means of 3 batches.

*A significant difference was observed in the evolution of the bacterial population during study in relation to time 0.

Table 2. Evolution of *Arcobacter cryaerophilus* (log cfu/g), lactic acid bacteria (LAB) count (log cfu/g), and pH during storage of water buffalo artisanal ricotta cheese stored at 6°C and 12°C¹

Day	Storage at 6°C				Storage at 12°C		
	<i>A. cryaerophilus</i>	pH	LAB		<i>A. cryaerophilus</i>	pH	LAB
0	5.62 ± 0.09	6.14 ± 0.02	<30 (cfu/g)		5.15 ± 0.04	6.11 ± 0.02	<30 (cfu/g)
1	5.40 ± 0.05	6.24 ± 0.04	<30 (cfu/g)	↑	5.90 ± 0.39*	6.21 ± 0.02	3.45 ± 0.43
2	5.30 ± 0.5	6.20 ± 0.02	<30 (cfu/g)		6.94 ± 0.58*	6.18 ± 0.03	4.44 ± 1.07*
3	5.24 ± 0.02	6.21 ± 0.04	<30 (cfu/g)		7.56 ± 0.19*	6.14 ± 0.04	6.58 ± 1.27*
4	5.19 ± 0.04*	6.23 ± 0.03	<30 (cfu/g)		7.72 ± 0.19*	5.69 ± 0.27	8.20 ± 1.70*
5	5.06 ± 0.27*	6.26 ± 0.02*	2.22 ± 0.21*		8.34 ± 0.14*	5.21 ± 0.32*	9.23 ± 0.31*

¹Data represent means of 3 batches.

*A significant difference was observed in the evolution of the bacterial population during study in relation to time 0.

Table 3. Evolution of *Arcobacter butzleri* (log cfu/g), lactic acid bacteria (LAB) count (log cfu/g), and pH during storage of cow industrial ricotta cheese stored at 6°C and 12°C¹

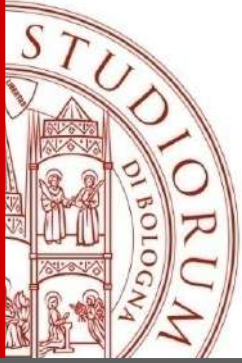
Day	Storage at 6°C			Storage at 12°C		
	<i>A. butzleri</i>	pH	LAB (cfu/g)	<i>A. butzleri</i>	pH	LAB (cfu/g)
0	6.77 ± 0.04	6.46 ± 0.01	<30	4.49 ± 0.01	6.47 ± 0.00	<30
1	6.71 ± 0.02	6.45 ± 0.01	<30	4.78 ± 0.25	6.48 ± 0.01	<30
2	6.53 ± 0.10	6.48 ± 0.00*	<30	6.23 ± 0.07*	6.49 ± 0.00	<30
3	6.23 ± 0.01	6.50 ± 0.01*	<30	7.01 ± 0.39*	6.50 ± 0.00	<30
7	5.78 ± 0.24*	6.43 ± 0.01*	<30	8.79 ± 0.21*	5.89 ± 0.01*	<30
10	5.66 ± 0.10*	6.41 ± 0.01*	<30	8.65 ± 0.55*	5.73 ± 0.06*	<30
14	5.18 ± 0.03*	6.24 ± 0.06*	<30	8.91 ± 0.79*	5.70 ± 0.03*	<30
18	4.78 ± 0.20*	6.21 ± 0.02*	<30	8.46 ± 0.54*	5.69 ± 0.00	<30
22	4.21 ± 0.82*	5.88 ± 0.05*	<30	8.69 ± 0.64*	5.59 ± 0.03	<30

¹Data represent means of 3 batches.

*A significant difference was observed in the evolution of the bacterial population during study in relation to time 0.

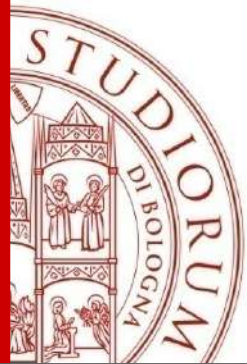
Table 4. Evolution of *Arcobacter cryaerophilus* (log cfu/g), lactic acid bacteria (LAB) count (cfu/g), and pH during storage of cow industrial ricotta cheese stored at 6°C and 12°C¹

Day	Storage at 6°C			Storage at 12°C		
	<i>A. cryaerophilus</i>	pH	LAB (cfu/g)	<i>A. cryaerophilus</i>	pH	LAB (cfu/g)
0	5.32 ± 0.09	6.47 ± 0.02	<30	5.17 ± 0.10	6.48 ± 0.00	<30
1	5.29 ± 0.08	6.45 ± 0.01	<30	5.75 ± 0.16*	6.48 ± 0.01	<30
2	5.09 ± 0.24	6.48 ± 0.00*	<30	6.81 ± 0.27*	6.49 ± 0.01	<30
3	5.13 ± 0.23	6.51 ± 0.01*	<30	7.82 ± 0.39*	6.50 ± 0.00	<30
7	4.64 ± 0.29*	6.44 ± 0.01*	<30	8.46 ± 0.51*	5.90 ± 0.01*	<30
10	3.99 ± 0.45*	6.40 ± 0.02*	<30	8.51 ± 0.27*	5.82 ± 0.22*	<30
14	3.68 ± 0.18*	6.17 ± 0.07*	<30	8.61 ± 0.15*	5.74 ± 0.03*	<30
18	3.55 ± 0.07*	6.20 ± 0.00*	<30	8.34 ± 0.20*	5.70 ± 0.01	<30
22	4.10 ± 0.36*	5.90 ± 0.02*	<30	8.06 ± 0.85*	5.60 ± 0.03	<30



Concludendo ...

- ✓ *Arcobacter* sono presenti negli allevamenti destinati alla produzione di latte (vaccino/bufalino);
- ✓ le feci degli animali, l'ambiente e le superfici con cui viene a contatto il latte rappresentano fonti di contaminazione;
- ✓ il latte rappresenta una fonte di contaminazione per il caseificio nel quale gli *Arcobacter* sono in grado di sopravvivere per lunghi periodi;
- ✓ *A. butzleri* è in grado di colonizzare in diverse superfici di produzione/lavorazione di caseifici artigianali ed industriali, sopravvivere per lunghi periodi, nonostante le procedure di pulizia e sanificazione e può rappresentare una fonte di contaminazione per i prodotti caseari ;
- ✓ La presenza di *A. butzleri* in RTE ricotta venduta al dettaglio è stata dimostrata la contaminazione post-processo risulta la fonte più probabile di contaminazione della ricotta;
- ✓ *Arcobacter* sono in grado di sopravvivere durante la shelf-life dei prodotti lattiero caseari e di moltiplicarsi in caso di abuso termico.
- ✓ Non solo gli alimenti crudi o poco cotti ma anche i prodotti processati industrialmente possono rappresentare una importante fonte di trasmissione da *Arcobacter* nell'uomo



Grazie per la cortese attenzione

Federica Giacometti