

Rischi da contaminazione batterica: vecchie conoscenze e patogeni emergenti

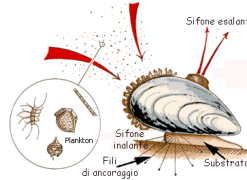
Elena Rocchegiani

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche - Sezione di Ancona -
Centro di Referenza Nazionale per il controllo chimico e microbiologico dei molluschi bivalvi

1

Molluschi bivalvi come veicolo di malattia

- Organismi filtratori trattengono nel loro organismo non solo il plancton necessario al loro metabolismo, ma anche bacilli e virus eventualmente presenti nell'ambiente
- Animali scavatori sessili o sedimentari, che si nutrono di piccole particelle alimentari presenti nell'acqua o nei sedimenti, mediante un meccanismo di filtrazione



	°C	Litri/ora
Mitilo	14	1,5
Ostrica Europea	15	12
Ostrica Americana	20	18

36-432 litri/giorno

Vecchie e nuove conoscenze?

- Batteri associati con la contaminazione fecale (umana /animale): Salmonella; Campylobacter; E.Coli; *Vibrio cholerae*
- Batteri ad habitat esclusivamente o prevalentemente marino microrganismi autoctoni: *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*
- Contaminazioni nella fase di lavorazione (Staphylococcus, Listeria, *Clostridium botulinum*, *Clostridium difficile*)

Epidemie associate al consumo di molluschi bivalvi negli ultimi 20 anni: **4% batteri associati a contaminazione fecale e 20% batteri naturalmente presenti nell'ambiente marino (virioni e virus).** (Lee R., 2011)



Fattori di rischio associati ai molluschi bivalvi

- ⇒ bioaccumulo di contaminanti ambientali
- ⇒ reimmersione in acque non idonee
- ⇒ depurazione non adeguata
- ⇒ cattiva conservazione (prodotti trasformati)

VIVI

- crudi
- cottura insufficiente

TRASFORMATI

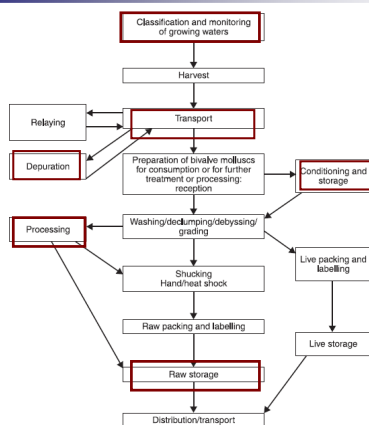
- marinate (ready to heat)
- congelati (uso dopo cottura)
- sottovuoto (uso dopo cottura)



Filiera complessa & Riferimenti normativi

Esistenza di riferimenti normativi solo per per alcuni parametri

- Reg. CE 1441/2007
 - Criteri di sicurezza alimentare per *E.coli* e Salmonella nei MBV, Echinodermi, Tunicati e Gasteroodi vivi (1.24)
 - Criteri di sicurezza alimentare per Salmonella nei crostacei e molluschi cotti (1.16)
 - Criteri di igiene di processo per *E.coli* e *S.aureus* nei prodotti sgusciati di crostacei e molluschi cotti (2.4.1)
 - criteri di sicurezza alimentare per *Listeria monocytogenes* in RTE
- Ordinanza Ministeriale 7 dicembre 1993
 - Limiti di *Listeria monocytogenes* in alcuni prodotti alimentari
- Reg CE 854/2004
 - Criteri per *E.coli* provenienti da zone di classe B e C;
- Reg. 853/2004
 - Contenuto in Biotossine nei MBV



Source: Lee R. J.; Rangdale R. E. (2011) Tracing pathogens in molluscan Shellfish production chain. In Tracing pathogens in the food chain, pp. 527-547 Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition Number 196

da dove siamo partiti....

Salmonella enterica sierotipo Typhi

Anno	Nord	Centro	Sud	Isole	Italia
1960	2.339 10,4	1.354 14,5	11.321 59,2		15.014 29,5
1970	2.061 8,4	1329 13,1	8213 43,5		11.603 21,6
1990	209 0,8	164 1,4	910 6,4	194 2,8	1477 2,5
1999	47 0,2	59 0,5	519 3,7	157 2,3	782 1,4

Incidenza della febbre tifoide in Italia: numero casi e morbosità x 100.000

L'incidenza negli USA: 1955: $1/10^5 \Rightarrow 1966: 0,2/10^5 \Rightarrow 1987-1996 0,15/10^5$

Controllo per la idoneità al consumo dei molluschi bivalvi: Criteri di sicurezza alimentare

Reg.CE 2073/2005 "Sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari"

Categoria alimentare	Microorganismo	Piano di campionamento		Limiti	Metodo d'analisi di riferimento	Fase a cui si applica il criterio
		n	c			
1.17 Molluschi bivalvi vivi ed echinodermi, tunicati e gasteropodi vivi	Salmonella	5	0	Assente in 25 g	EN/ISO 6579	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
1.24 Molluschi bivalvi vivi ed echinodermi, tunicati e gasteropodi vivi	E. Coli (*)	1	0	230 MPN/100g di carne e liquido intervalvare	ISO TS 16649-3	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità

PROBLEMA: evidenza di altri contaminanti di cui non sono indicati i limiti e che possono essere considerati nocivi o pericolosi

8

Reg. CE 2073/2005

Contaminazione da E.coli

- E' utilizzato come indicatore di contaminazione fecale
- Solo per i molluschi bivalvi è considerato come criterio di sicurezza alimentare, peraltro con un limite restrittivo (230MPN/100g) il cui superamento comporta un intervento di tipo repressivo penalmente perseguibile indipendentemente dalla contemporanea presenza di un vero patogeno intestinale quale la *Salmonella spp.*

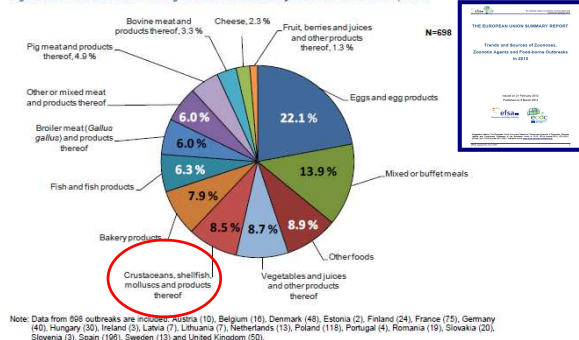
Criterio di sicurezza alimentare :Definisce l'accettabilità di un prodotto alimentare o di una partita di prodotti; si applica ai prodotti immessi sul mercato per l'intera durata del periodo di conservabilità

Germe indicatore

- Concetto di *indicatore* gradualmente modificato
- ogni patogeno rappresenta solo sé stesso e la sua assenza non indica l'assenza di altri Patogeni
- Limiti degli indicatori considerati in senso tradizionale
 - non idonei a segnalare la presenza di microrganismi a diffusione diversa da quella fecale-orale
 - non idonei a segnalare batteri presenti indipendentemente da contaminazioni, sia perché hanno il loro habitat naturale nelle acque sia perché la loro presenza è legata a fattori diversi
 - non idonei a segnalare la presenza di microrganismi (batteri, virus e parassiti) con caratteristiche di sopravvivenza maggiore con forme di diffusione (cisti, oocisti, spore, uova) resistenti ai fattori ambientali e ai trattamenti dell'acqua

Report Efsa, 2012

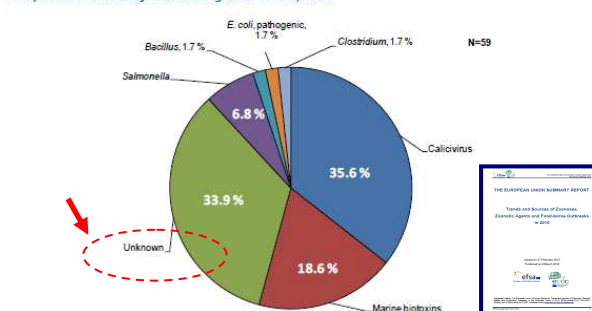
Figure OUT4. Distribution of strong evidence outbreaks by food vehicle in the EU, 2010.



The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. EFSA Journal 2012;10(3):2597

Report Efsa, 2012

Figure OUT9. Distribution of strong evidence outbreaks caused by crustaceans, shellfish, molluscs and products thereof by causative agent in the EU, 2010.



The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. EFSA Journal 2012;10(3):2597

« Is there a significant public health risk due to Salmonella in live bivalve mollusc?

Region and year	no of single samples	% positive	no of batches	% positive	Reference
EU, 2007	1009	0.6%	3214	0.9%	EFSA Journal 3: 223, 2009
EU, 2008	330	0.9%	5	0	EFSA Journal 8:1496, 2010
EU, 2009	499	3.4%	294	1%	EFSA Journal 9: 2090, 2011
US, 2007	395	1.5% are positive by culture method and 8.6% by more sensitive PCR	-	-	DiPaola et al., Appl. Environ. Microbiol., 76: 2574, 2010

Data on the prevalence of Salmonella in bivalves at market level

Conclusions of the FAO/WHO Expert Meeting on Salmonella in bivalve molluscs (20-21 October 2011)
http://ftp.fao.org/ag/agn/jemra/CRD_12_Interim_report.pdf

Salmonella

- Prevalence in European harvesting areas
 - Up to 10%, varying with class
 - Approximately 1% at market level
 - In EU serovars S.Enteritidis and S.Typhimurium
 - In USA S.Newport and S.Arizona
- Incidence of shellfish-associated salmonellosis rare in Europe
 - 1 to 2% of all shellfish-associated outbreaks
- Prevalence in market-level samples in India
 - 34%, varying with bivalve species
 - in south-east Asian seafood Occurs widely S. Weltevreden

Conclusions of the FAO/WHO Expert Meeting on Salmonella in bivalve molluscs (20-21 October 2011)
http://ftp.fao.org/ag/agn/jemra/CRD_12_Interim_report.pdf

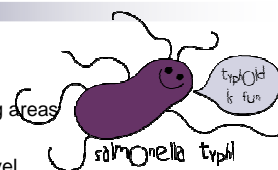
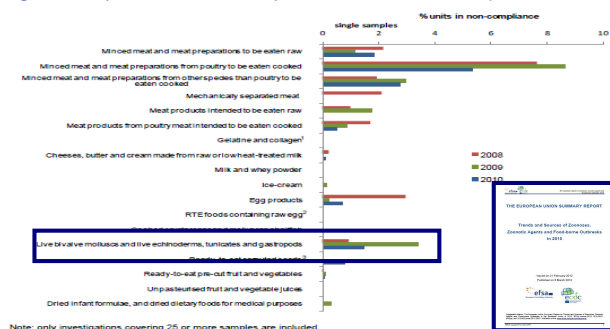


Figure SA3. Proportion of units in non-compliance with EU Salmonella criteria, 2008-2010



Note: only investigations covering 25 or more samples are included.
 1. No investigations with 25 or more batches of gelatine and collagen in 2009.
 2. No investigations with 25 or more samples of RTE foods containing raw egg in 2009 and 2010, and batches in 2009 and 2010.
 3. No investigations with 25 or more batches of RTE sprouted seeds in 2010.

The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. EFSA Journal 2012;10(3):2597

Controllo per la idoneità al consumo dei molluschi bivalvi

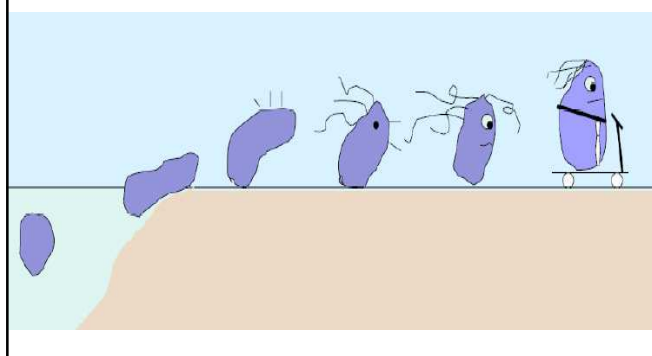
LA SITUAZIONE

- È prevista la possibilità di depurare tutte le specie di molluschi
- Il controllo per la idoneità al consumo umano è incentrato su batteri fecali, biotossine e metalli pesanti

I PROBLEMI

- Pochi dati sull'effettiva depurabilità di tutte le specie di molluschi
- Aumento segnalazioni da patogeni emergenti (infezioni alimentari da virus e da batteri marini) non correlati agli indicatori batterici di inquinamento fecale

I patogeni emergenti dal mare



Patogeni emergenti dal mare

- AUTOCTONI DELL'AMBIENTE MARINO
- gli indicatori fecali non sono correlati con la presenza di Vibrio
- i sistemi di depurazione falliscono nell'abbattere Vibrio spp nei tempi previsti per i batteri indicatori



Cambiamenti climatici – fattori che potrebbero aumentare i rischi sanitari da consumo di molluschi bivalvi



- Aumento della temperatura del mare
- Aumento della temperatura dell'aria
- Aumento delle piogge
 - Frequenza
 - Intensità
 - Diminuzione della salinità dell'acqua di mare
- Cambiamento dei venti
- Cambiamento delle correnti oceaniche

CSMVSP Opinion, 2001ma che un aumento poteva essere previsto dato l'intensificarsi degli scambi internazionali, soprattutto a causa dei prodotti provenienti dall'oriente;

Climate change and pathogens

TABLE 6.2 Water and food-borne agents: connection to climate.

Pathogen groups	Pathogenic agent	Food-borne agents	Water-borne agents	Indirect weather effect	Direct weather effect
Viruses	Enteric viruses (e.g. hepatitis A virus, Coxsackie B virus)	Shellfish	Groundwater	Storms can increase transport from faecal and waste water sources	Survival increases at reduced temperatures and sunlight (ultraviolet ^a)
Bacteria	Vibrio (e.g. <i>V. vulnificus</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. cholerae</i> non-O1;	Shellfish	Recreational, Wound infections	Enhanced zooplankton blooms	Salinity and temperature associated with growth in marine environment
Cyanobacteria	Anabaena spp., Gymnodinium				
Dinoflagellates	Pseudo-nitzschia spp.)				
Protozoa	Enteric protozoa (e.g. Cyclospora, Cryptosporidium)	Fruit and vegetables	Recreational and drinking water	Storms can increase transport from faecal and waste water sources.	Temperature associated with maturation and infectivity of Cyclospora

^a Also applies to bacteria and protozoa.

WHO (World Health Organization) 2003

Vibrionaceae

- Oltre 40 specie (tassonomia in rapida evoluzione)
- 3 specie di interesse: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*
- Salinità (5-25ppt) e Temperatura (15-30°C)
- *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* in acque costiere temperate o tropicali

Specie Vibrio	Sito di infezione						
	Tutto gastro-intestinale	Ferita	Orecchio	Settore primario	Batteremia	Pneumone	Meningi
<i>V. cholerae</i> O1/O139	++	(+)	?	?	?	?	?
<i>V. cholerae</i> non-O1 / non-O139	++	+	(+)	(+)	?	?	(+)
<i>V. parahaemolyticus</i>	++	+	(+)	?	(+)	(+)	(+)
<i>V. vulnificus</i>	+	++	?	++	+	(+)	(+)
<i>V. fischeri</i>	++	?	?	?	?	?	?
<i>V. alginolyticus</i>	?	++	+	?	(+)	?	?
<i>V. damsela</i>	?	++	?	?	?	?	?
<i>V. fischeri</i>	(+)	?	?	?	?	?	?
<i>V. cholerae</i>	++	?	?	(+)	?	?	?
<i>V. vulnificus</i>	++	+	+	?	?	?	?
<i>V. parahaemolyticus</i>	(+)	?	?	(+)	?	?	?
<i>V. vulnificus</i>	?	?	?	?	(+)	?	(+)
<i>V. cholerae</i>	?	++	?	?	?	?	?

++ più comune sito di infezione; + altri siti di infezione; (+) raro sito di infezione; ? da stabilire. Modificata da [11, 12].



Agosto 1973: a Napoli scoppia il colera

Ottobre 1973: l'Organizzazione Mondiale della Sanità dichiara terminata, a tre mesi dallo scoppio, l'emergenza colera a Napoli.

Mario Soscia, direttore del "Cotugno": "La folla dei parenti premeva contro i cancelli per avere notizie dei propri cari in isolamento. Usavamo un megafono per fornire notizie".

file per la vaccinazione di massa



Colera 2008 (WHO)

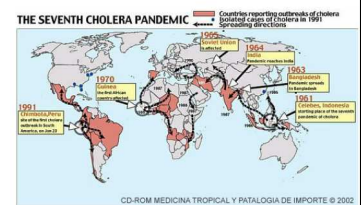
- 94% dei casi totali riscontrati nel Continente Africano. WHO stima che i casi notificati rappresentino in realtà il 5-10% dei casi presenti
- Il colera è strettamente associato a povertà, abitazioni affollate e stato socio-economico basso!
- Il rischio di colera in Italia è generalmente molto basso, fatta eccezione per crostacei o molluschi importati illegalmente e per i viaggiatori in aree dove si è verificata un'epidemia.
- Il rischio di contrarre la malattia per il viaggiatore internazionale è di 0.2 casi/100.000



	casi	morti	%
Africa	179.323	5074	2,83
Nord-America	7	0	
Asia	10.778	69	0,64
Europa	22	0	
Oceania	0		
Total	190.130	5143	2,71

Il colera

VII pandemia causata dal biotipo El Tor



- Sierogruppo O1: colera epidemico (6 pandemie biotipo Classico - 1817/1923 e Settima Pandemia ElTor - 1961-1997)
- Sierogruppo O139 (1992)
- Enterotossina colerica > diarrea secretoria; incubazione 12-72 ore
- Dose infettante: 10⁸ unità (ma: inferiore in pazienti con ipocloridria e effetto protettivo fornito dagli alimenti)

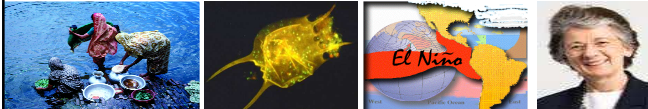
Inizia nel 1961 in Indonesia. Raggiunge l'Est dell'Asia nel 1970 ed il Sud America nel 1991 dove durerà fino al 1996

- Coinvolge 21 paesi
- Un totale di 1.000.000 di casi
- Causa 120.000 morti (12%)

Ipotesi: Arrivo della Settima Pandemia di Colera in Perù nel 1991 con El Niño.
Source: Martinez-Urtaza, et al., 2008

«Cholera Paradigm»

- Il colera rappresenta un esempio di come la salute umana sia minacciata dai cambiamenti climatici
- Le epidemie stagionali in Bangladesh si diffondono periodicamente con El Niño
- Il vibrione vive attaccato a piccoli crostacei, dove può sopravvivere a lungo, fino a 14 giorni.
- La popolazione dei piccoli crostacei dipende dall'abbondanza del phytoplankton
- Il fitoplancton tende ad aumentare (bloom) quando la temperatura dell'oceano è calda
- Al bloom di fitoplancton segue il bloom di zooplancton e associato l'aumento di *Vibrio cholerae*



altri vibrioni

*"Prima una gamba scura e gonfia poi febbre alta e delirio. Sono sintomi non comuni quelli che hanno improvvisamente colpito, nei mesi scorsi, un riminese. Ma ancora meno comune quanto emerso dagli esami clinici: responsabile dello stato di malessere è risultato infatti il **Vibrio vulnificus**, e cioè un batterio cugino e simile al colera. Un viaggio esotico senza le necessarie precauzioni o senza fare i vaccini adeguati, si penserà. Macché. A provocare la grave infezione sono stati semplici bagni nelle acque del mare di Rimini."*

La voce di Romagna, 25 agosto 2011



Vibrio vulnificus

- Setticemia mortale (in seguito al consumo di ostriche crude (setticemia primaria))
- Letalità: 40-60%**
- Setticemia secondaria per esposizione di ferite all'acqua di mare contaminata
- Gastroenterite
- tempo di incubazione ca. 38 ore
- infezione rara (<100 yr/USA)
- Condizioni ottimali per la moltiplicazione:
 - Temperature (21-28°C)
 - Salinità ($\leq 3\%$)
- Dose infettante: ?



Il V. vulnificus è un problema serio negli USA

- Negli Stati Uniti rappresenta la principale causa di morte per setticemia in seguito a consumo di MB contaminati
- 900 infezioni da *V. vulnificus* negli stati del Golfo (1998-2006, CDC).
- Mortalità del 50%
- Infezioni associate al consumo ostriche crude



V. vulnificus in Europa

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Jan. 1998, p. 7-13
0095-2241/98/0504-00+0
Copyright © 1998, American Society for Microbiology

Vol. 64, No. 1

Occurrence of *Vibrio vulnificus* Biotypes in Danish Marine Environments

L. HØI,^{1*} J. L. LARSEN,¹ I. DALSGAARD,² AND A. DALSGAARD²
¹Department of Veterinary Microbiology, ²and Danish Institute for Fisheries Research,
³The Royal Veterinary and Agricultural University, Ørstedvej 39, Copenhagen, Denmark

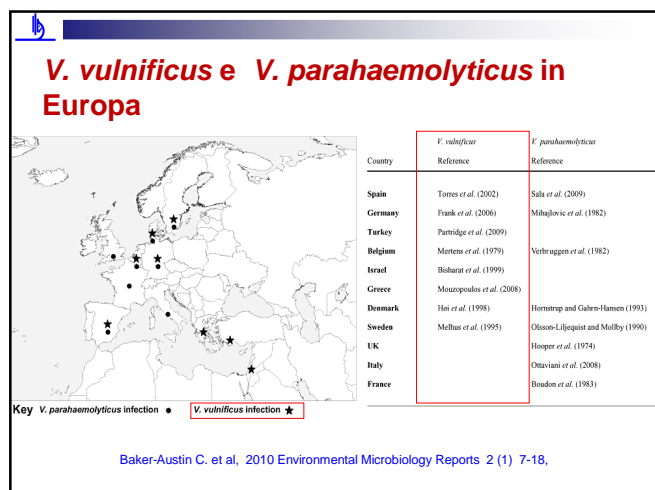
Received 25 July 1997/Accepted 10 October 1997

- Nel 1994 in Danimarca durante un' estate insolitamente calda, sono stati descritti 11 casi clinici di *Vibrio vulnificus*. La via di infezione di 10 casi erano lesioni della pelle preesistenti.
- La presenza di *V. vulnificus* era strettamente correlata con la temperatura dell'acqua del mare. La densità media più alta di *V. vulnificus* nel mare è stata raggiunta dopo 1 settimana a 22°C.

Vibrio vulnificus in Israele

- 1996-1998: 89 casi di infezione e batteriemia segnalati in Israele in pescatori ed operatori del mercato ittico
- Le estati 1996, 1997 e 1998 sono state le più calde degli ultimi 40 anni in Israele
- Ogni estate, c'erano 2-4 settimane tra l'ondata di caldo e l'aumento dei casi di vibriosi
- Anche altri fattori potrebbero aver contribuito all'insolita frequenza dei casi

Source: Paz, et al., 2006



Infezioni gastroenteriche da *V. vulnificus* in Italia 2000-2005

	2000	2001	2002	2003	2004	2005
N° casi/ regione	1/Sardegna	1/Sardegna	4/Puglia 1/Calabria 1/Sardegna	2/Sicilia 2/Calabria 4/Puglia	1/Campania 4/Puglia 2/Sicilia	2/Sicilia 7/Lazio 5/Puglia
Casi totali	1	1	6	8	7	14

www.salute.gov.it/ricoveri/Ospedallieri/ricoveriOspedallieri.jsp
 Dati estrapolati da Banca dati del Ministero della Salute sui ricoveri ospedaliari (SDO).

Prevalenza ambientale di *V. vulnificus* in Italia

ORIGINAL ARTICLE

Occurrence of *Vibrio vulnificus* in mussel farms from the Varano lagoon environment

L. Beneduce¹, A. Vernile¹, G. Spano¹, S. Massa¹, F. Lamacchia¹ and J.D. Oliver²

¹ Department of Food Science, Foggia University, Foggia, Italy
² Department of Biology, University of North Carolina, Charlotte, NC, USA

Keywords: aquaculture, mussel, *Vibrio vulnificus*, waterborne pathogens.

Abstract: Aims: Monitoring the occurrence of the human pathogen *Vibrio vulnificus* in a mussel farm located in the lagoon of Varano (Italy). Methods and Results: A total of 72 samples of mussel, water and sediment, collected from two locations of Varano lagoon in the Gargano peninsula, during a 7-month survey, were analysed. Isolation and PCR characterization of six *V. vulnificus* environmental genotype strains revealed that this pathogen was isolated when with T was above 22°C and salinity ranged between 22-7 and 26-‰. No significant correlation of the occurrence of *V. vulnificus* with water pH or salinity was observed. Moreover, 8% of mussel samples were found to be contaminated by *V. vulnificus*. All of that positive mussel samples originated from the same sampling station.

doi:10.1111/j.1472-765X.2010.02917.x

8% *V.v.*

Questo specifico ecosistema, che in realtà è una laguna comunicante con il mare Adriatico, presenta livelli di salinità più bassi del mare aperto ed è quindi idoneo allo sviluppo di *V. vulnificus*.

Prevalenza ambientale di *V. vulnificus* in Italia

Short Communication

Vibrio parahaemolyticus, *Vibrio vulnificus* and microorganisms of fecal origin in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) sold in the Puglia region (Italy)

G. Normanno ^{a,*}, A. Parisi ^b, N. Addante ^b, N.C. Quaglia ^a, A. Dambrosio ^a, C. Montagna ^b, D. Chiocco ^b

^a Department of Health and Animal Welfare, Faculty of Veterinary Medicine, Strada provinciale per Casamonaci Km 3, 70010 Valmone (Bari), Italy
^b Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e Basilicata Via Melfoniana 26, 71100 Foggia, Italy

Received 5 March 2005; accepted 24 May 2005

Abstract: *Mytilus galloprovincialis* is one of the most commonly consumed of all bivalve molluscs. The consumption of raw bivalve molluscs has caused outbreaks of food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*. This paper reports the results of a survey on the presence of *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* fecal coliform bacteria, *Enterobacteriaceae* and *Salmonella* spp. in 600 *M. galloprovincialis* samples collected from retail outlets in the Puglia region. *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* were found in 47 (7.83%) and 55 (9.16%) of 200 samples, respectively. One sample (0.16%) was contaminated with *Salmonella* spp. but no relationship was observed between vibrios and fecal coliforms and *E. coli*. There were no significant differences among vibrios present in bivalve molluscs during the 3-year survey.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Mussels; *V. parahaemolyticus*; *V. vulnificus*

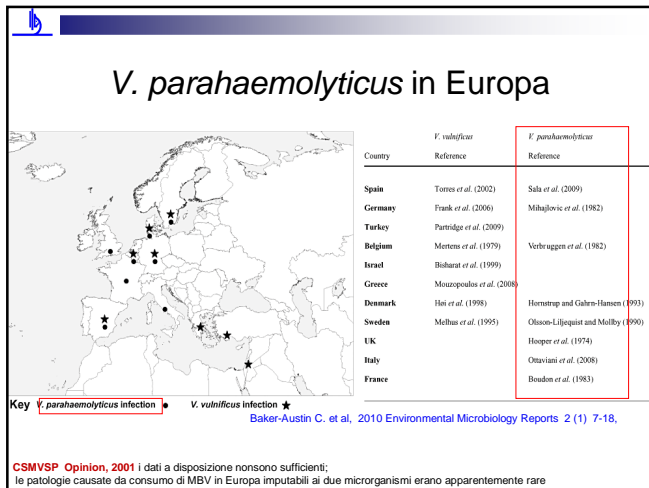
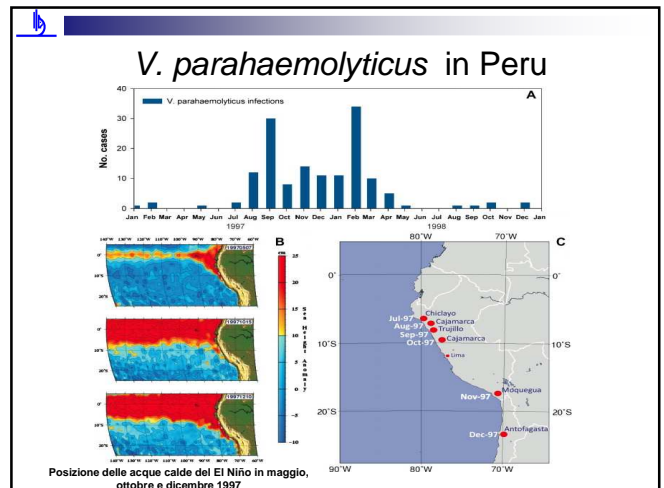
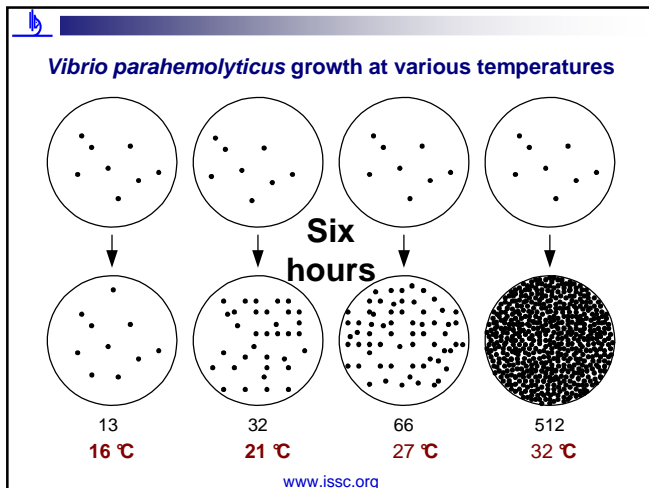
Molluscan shellfish-associated outbreaks (USA)

Agent	Outbreaks		Cases	
	total	%	total	%
<i>V. parahaemolyticus</i>	18	27	133	22
Norwalk / virus	15	23	2 175	66
PSP / toxin	14	20	92	3
<i>Salmonella</i>	6	9	183	6
Scombroid	2	3	4	-
Ciguatera	3	5	5	-
<i>Shigella</i>	2	3	17	0.5
<i>Campylobacter</i>	2	3	6	-
<i>V. vulnificus</i>	1	-	2	-
<i>V. alginolyticus</i>	1	-	4	-
<i>C. perfringens</i>	1	-	57	2
Giardia	1	-	3	-
Total	66	100	3 281	100

Outbreaks for which an aetiological agent had been identified. Huss H, Ababouch L & Gram L. 2004 Assessment and management of seafood safety and quality FAO, Rome

V. parahaemolyticus

- Autoctono dell'ambiente marino costiero
- Emolisine (tdh e trh) > gastroenterite acuta; incubazione 4-96 ore
- Dose infettante > 10⁵ ufc/g di *V. p. patogeno*
- Solo una piccola proporzione di *Vp* presente nell'ambiente (2-3%) possiede i geni tdh e/o trh!
- Tempo di replicazione molto breve (<12 min. in condizioni ottimali)
- Pronta refrigerazione è efficace nel controllare la malattia

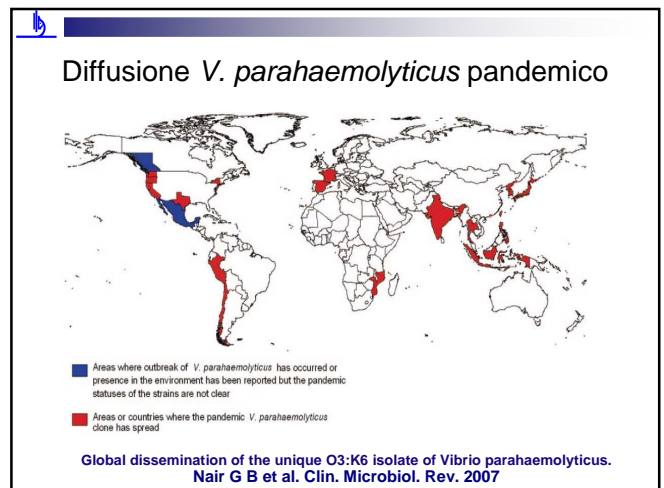
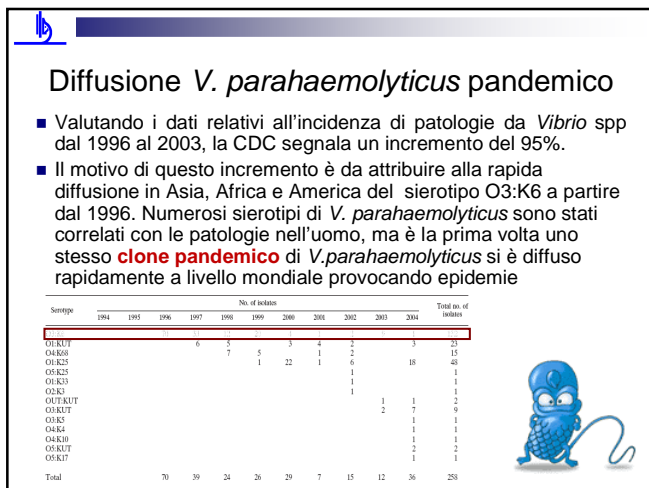


Infezioni da *V. parahaemolyticus* in Italia 1999-2005

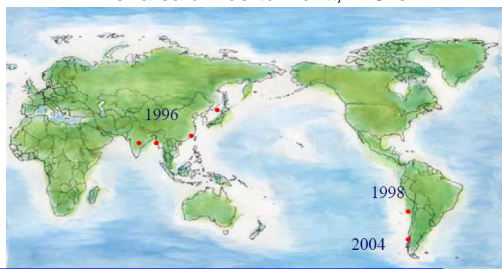
	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
N° casi/ regione	3/Sicilia	4/Emilia 2/Lazio	23/Veneto 3/Puglia	4/Sicilia 3/Abruzzo	10/Lazio 2/Toscana 3/Campania 2/Puglia	1/Abruzzo 2/Calabria	1/Sicilia
Casi totali	3	6	26	7	17	3	1

www.salute.gov.it/ricoveriOspedali/ricoveriOspedali.jsp

Dati estrapolati da Banca dati del Ministero della Salute sui ricoveri ospedalieri (SDO).



V. Parahaemolyticus clone pandemico sierotipo O3:K6 nell'area di Puerto Montt, in Cile



	Year	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Clinical cases	1500	3725	1083	477	1153	441	
Analyzed cases		24	40	19	37	46	14
Pandemic positive		23 (96)	40 (100)	19 (100)	27 (73)	45 (98)	9 (64)
Pandemic No O3:K6		?	0	0	13	1	0
Pandemic No orfB		?	0	0	0	0	0
Pandemic No toxRS/new		?	0	0	0	2	0
Pandemic with 42 KB phage		0/9 (0)	1/9 (11)	6/11 (54)	0/27 (0)	2/8 (25)	2/13 (15)

.....e in Italia?

Primi isolamenti di V. parahaemolyticus pandemico da pazienti ospedalizzati nel Centro Italia

- Nel 2007 e 2008 sono stati segnalati due casi clinici dovuti al ceppo clonale pandemico di V. parahaemolyticus (Ottaviani et al., 2008).
- Si trattava di individui sani, che non avevano di recente effettuato viaggi in zone endemiche e che avevano consumato nelle ore precedenti la comparsa dei sintomi molluschi bivalvi di provenienza indigena acquistati da venditori ambulanti locali.

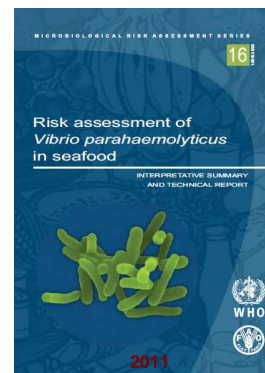
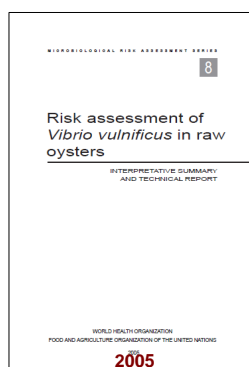
Prima segnalazione di V. parahaemolyticus pandemico in Adriatico estate 2007

- Nello stesso periodo da un campione di plancton marino proveniente dalla laguna veneta veniva isolato un ceppo di V. parahaemolyticus appartenente anch'esso al clone pandemico (Caburlotto et al., 2008).

V. parahaemolyticus complex clonale pandemico in Italia

- ❑ Stipiti di V. parahaemolyticus pandemico sono circolati in Italia nel 2007 e nel 2008
- ❑ V. parahaemolyticus pandemico non è stato più isolato dal 2008
- ❑ Campioni ambientali eseguiti nelle stesse stazioni della laguna veneta non hanno più dato esito positivo per clone pandemico
- ❑ I ceppi pandemici sono solo transitati nel nostro paese oppure sono particolarmente difficili da isolare?

FAO/WHO Risk Assessments



CSMVSP Opinion, 2001 Devono essere stabiliti codici per assicurare l'adeguata applicazione delle buone prassi igieniche.

C O D E X
International Food Standards

World Health Organization

Food and Agriculture Organization of the United Nations

CAC/GL 73-2010
Guidelines on the application of general principles of Food hygiene to the control of pathogenic *Vibrio* species in seafood

GUIDELINES ON THE APPLICATION OF GENERAL PRINCIPLES OF FOOD HYGIENE TO THE CONTROL OF PATHOGENIC *VIBRIO* SPECIES IN SEAFOOD

INTRODUCTION

1. The purpose of this guideline is to provide guidance on the application of the general principles of food hygiene to the control of pathogenic *Vibrio* species in seafood.

2. The guideline is based on the Codex Alimentarius Commission's (CAC) General Principles of Food Hygiene (CAC/GL 51-2002) and the Codex Alimentarius Commission's (CAC) Code of Hygienic Practice for Seafood (CAC/GL 19-2003).

3. The guideline is intended to be used by food safety authorities and food producers to develop and implement food safety management systems for the control of pathogenic *Vibrio* species in seafood.

4. The guideline is intended to be used in conjunction with the Codex Alimentarius Commission's (CAC) General Principles of Food Hygiene (CAC/GL 51-2002) and the Codex Alimentarius Commission's (CAC) Code of Hygienic Practice for Seafood (CAC/GL 19-2003).

5. The guideline is intended to be used in conjunction with the Codex Alimentarius Commission's (CAC) General Principles of Food Hygiene (CAC/GL 51-2002) and the Codex Alimentarius Commission's (CAC) Code of Hygienic Practice for Seafood (CAC/GL 19-2003).

6. The guideline is intended to be used in conjunction with the Codex Alimentarius Commission's (CAC) General Principles of Food Hygiene (CAC/GL 51-2002) and the Codex Alimentarius Commission's (CAC) Code of Hygienic Practice for Seafood (CAC/GL 19-2003).

7. The guideline is intended to be used in conjunction with the Codex Alimentarius Commission's (CAC) General Principles of Food Hygiene (CAC/GL 51-2002) and the Codex Alimentarius Commission's (CAC) Code of Hygienic Practice for Seafood (CAC/GL 19-2003).

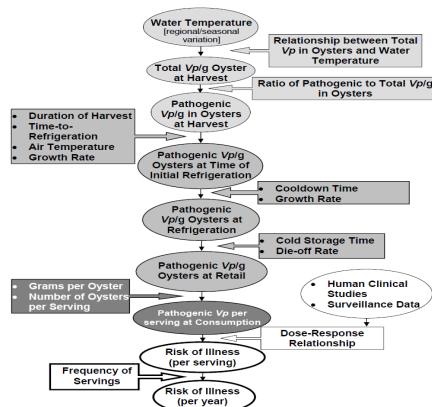
8. The guideline is intended to be used in conjunction with the Codex Alimentarius Commission's (CAC) General Principles of Food Hygiene (CAC/GL 51-2002) and the Codex Alimentarius Commission's (CAC) Code of Hygienic Practice for Seafood (CAC/GL 19-2003).

9. The guideline is intended to be used in conjunction with the Codex Alimentarius Commission's (CAC) General Principles of Food Hygiene (CAC/GL 51-2002) and the Codex Alimentarius Commission's (CAC) Code of Hygienic Practice for Seafood (CAC/GL 19-2003).

10. The guideline is intended to be used in conjunction with the Codex Alimentarius Commission's (CAC) General Principles of Food Hygiene (CAC/GL 51-2002) and the Codex Alimentarius Commission's (CAC) Code of Hygienic Practice for Seafood (CAC/GL 19-2003).

CSMVSP Opinion, 2001 Devono essere stabiliti codici per assicurare l'adeguata applicazione delle buone prassi igieniche.

V. parahaemolyticus risk assessment



The Interstate Shellfish Sanitation Conference (ISSC), the body responsible for shellfish sanitation in the USA, developed risk based strategies for assessing shellfish harvest areas.

www.issc.org

10 anni fa il CSMVSP ha adottato un parere sul *Vibrio vulnificus* e sul *Vibrio parahaemolyticus*, concludendo che:

- ❑ i dati a disposizione **non erano sufficienti**;
- ❑ che le patologie causate da consumo di MBV in Europa imputabili ai due microrganismi erano apparentemente **rare**;
- ❑ ma che un **aumento** poteva essere previsto dato l'intensificarsi degli scambi internazionali, soprattutto a causa dei prodotti **provenienti dall'oriente**;
- ❑ I metodi utilizzati dai diversi ricercatori per la determinazione sia di V.v sia di V.p mostravano diversa sensibilità, tanto da rendere difficile una comparazione dei risultati;

Anon (2001) Opinion of the scientific committee on veterinary measures related to public health regarding *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* in raw and undercooked.
Adopted on 19-20 September 2001.

.....10 anni fa il CSMVSP ha adottato un parere sul *Vibrio vulnificus* e sul *Vibrio parahaemolyticus*, concludendo che:

- ❑ la pratica di giudicare i prodotti ittici basandosi esclusivamente sulla conta totale di *Vibrio* quale indicatore di presenza di vibrioni patogeni non è appropriata;
- ❑ La pratica di giudicare i prodotti ittici basandosi esclusivamente sulla conta totale di *Vibrio parahaemolyticus* senza considerare i fattori di virulenza (TDH/TRH) non è appropriata;
- ❑ I dati scientifici disponibili non supportano l'adozione di standard specifici o di criteri microbiologici per V.p. e per V.v. nei prodotti ittici.
- ❑ Devono essere stabiliti codici per assicurare l'adeguata applicazione delle buone prassi igieniche.

Anon (2001) Opinion of the scientific committee on veterinary measures related to public health regarding *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* in raw and undercooked.
Adopted on 19-20 September 2001.

Pertanto era necessario:

- ❑Avere informazioni sull'incidenza di V.p. e V. v. in EU
- ❑Armonizzare e standardizzare le tecniche di determinazione, numerazione e caratterizzazione della patogenicità
- ❑Ottimizzare le tecniche di caratterizzazione della virulenza

.....e così è finita che:

- ❑Nel Reg (CE) 2073/2005 e smi non c'è traccia né di vibrioni né di virus se non nei CONSIDERANDA

Anon (2001) Opinion of the scientific committee on veterinary measures related to public health regarding *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* in raw and undercooked.
Adopted on 19-20 September 2001.

Metodi per il rilevamento, la numerazione e l'identificazione di *Vibrio* spp.

❑ Problemi tecnici

- ❑ Metodi qualitativi e dose infettante
- ❑ Fattori di patogenicità non sempre considerati

Ne consegue che:

- ❑ un numero considerevole di allerte è dovuto all'impiego di terreni selettivi e prove biochimiche.
- ❑ Scarso significato dal punto di vista di sanità pubblica

Cause of detention/rejection No. of rejections / detentions

	1999	2000	2001	2002
Microbial	59	53	49	47
<i>V. parahaemolyticus</i>	13	10	19	14
<i>V. vulnificus</i>		2	1	3
<i>V. cholerae</i>	9	8	9	5
Other vibrios		1		
Enterobacteria	6	2	4	6
<i>S. aureus</i>	7	0		
<i>Listeria</i>		0		
<i>Salmonella</i>	20	18	10	12
Hepatitis	1	1		
Total plate count	1	8	4	7
Molds		1	1	
<i>Clostridium</i>		2	1	

CSMVSP Opinion, 2001 Armonizzare e standardizzare le tecniche di determinazione, numerazione e caratterizzazione della patogenicità. Ottimizzare le tecniche di caratterizzazione della virulenza

In sintesi la Normativa di riferimento

- La pratica di giudicare i prodotti ittici basandosi esclusivamente sulla conta totale di *Vibrio* quale indicativa di presenza di Vibrioni patogeni non è appropriata;
- La pratica di giudicare i prodotti ittici basandosi esclusivamente sulla conta totale di *Vibrio parahaemolyticus* senza considerare i fattori di virulenza (TDH/TRH) non è appropriata;
- *Vibrio parahaemolyticus*: isolato con metodo culturale, identificato mediante prove biochimiche; confermato mediante PCR utilizzando il gene target "tox R". E' necessario valutare le proprietà tossigene (presenza dei geni *tdh* e/o *trh*)
- La presenza di *Vibrio alginolyticus* nei prodotti della pesca, non rappresenta un serio pericolo per il consumatore
- I ceppi isolati di *Vibrio cholerae* non-O1 e non-O139 devono essere tipizzati (PCR) allo scopo di evidenziare la presenza del gene (*stx/sto*).
- Conta di *Vibrio vulnificus*: alimento pericoloso > 10³ UFC/g

- ✓ Normative specifiche Igiene Alimenti (art. 5 L.283/1962)
- ✓ Parere del Ministero della Salute, del 15 settembre 2005 (documento n. DG-VA-IIIIX/ 32799) attestante la necessità di valutare le proprietà tossigene di *V. parahaemolyticus* negli alimenti.
- ✓ Parere del Ministero della Salute, del 5 ottobre 2006 (documento n. DG-VA-IIIIX/ 35312) per l'identificazione dei fattori di tossicità del *Vibrio cholerae* non O1 e non O139; *Vibrio alginolyticus* e *Vibrio vulnificus*

Gulf Coast Oyster Warning
(English and Spanish)

WARNING

This facility offers raw oysters from the Gulf of Mexico. Eating these oysters may cause severe illness and even death in persons with liver disease (for example) cirrhosis, cancer or other chronic illnesses that weaken the immune system.

If you eat raw oysters and become ill you should seek immediate medical attention. If you are unsure you are at risk, you should consult your physician.

AVISO IMPORTANTE

Las ostras crudas del Golfo de México implican ciertos riesgos. Comer estas ostras crudas puede causar una enfermedad grave, y hasta la muerte en personas que padecen de enfermedades del hígado, (por ejemplo) Cirrosis hepática, cáncer u otras enfermedades crónicas que debilitan el sistema inmunológico.

Si Usted come ostras crudas y se enferma, debe buscar atención médica inmediatamente. Si Usted está en peligro debe consultar a un médico.

Comunicazione del rischio

WHAT ARE THE SYMPTOMS?

Symptoms usually occur within 24-48 hours and may include:

- Stomach pain
- Diarrhea
- Stomach pain & Nausea
- Stomach pain
- Stomach pain
- Stomach pain

If you have consumed raw shellfish, and have any of these symptoms, seek medical attention immediately. For those at risk, education can help reduce the risk of illness.

Most shellfish have little health risk. However, some shellfish are not safe to eat.

FOR MORE INFORMATION

Contact the following:

- Local Health Department
- Local Shellfish Association
- Local Shellfish Association

or visit www.issc.org

COOKING TIPS

Shellfish are safe to eat if they are cooked properly. Cooking shellfish to 145°F (63°C) for 3-4 minutes will kill any bacteria. Shellfish should be cooked thoroughly. Shellfish should be cooked thoroughly. Shellfish should be cooked thoroughly.

SHOULD I BOIL?

Boiling shellfish is not recommended. Boiling shellfish can make it more difficult to digest. Boiling shellfish can make it more difficult to digest. Boiling shellfish can make it more difficult to digest.

IS SC

Interstate Shellfish Sanitation Conference

The Risk of Eating Raw Molluscan Shellfish

Containing Vibrio vulnificus

Advice for persons with low disease resistance or vulnerable immune systems

Interstate Shellfish Sanitation Conference

DID YOU KNOW...?

Shellfish are a healthy part of a diet. Shellfish are a healthy part of a diet. Shellfish are a healthy part of a diet.

WHERE IS IT FOUND?

Shellfish are found in coastal waters. Shellfish are found in coastal waters. Shellfish are found in coastal waters.

HOW CAN YOU AVOID INFECTION?

Shellfish should be cooked thoroughly. Shellfish should be cooked thoroughly. Shellfish should be cooked thoroughly.

ARE YOU AT RISK?

People with low disease resistance or vulnerable immune systems are at risk. People with low disease resistance or vulnerable immune systems are at risk.

Source: ISCC Interstate Shellfish Sanitation Conference. www.issc.org

HAIN OF CUSTODY™ TEMPERATURE CONTROLS

Temperature abuse of shellfish can cause low numbers of vibrio present at time of harvest to multiply to dangerous levels. Therefore, it is important for growers to educate everyone who handles shellfish about the importance of temperature control. This includes dealers, wholesalers, trucks, retailers, foodservice workers and consumers. Everyone in this chain needs to be educated about the importance of keeping shellfish under temperature control at all times. Ask them about their protocol and what measures they have in place to assure strict compliance with temperature requirements.

TRANSPORTATION

Temperature data loggers can be used to track changes in temperature throughout the transportation process, allowing receivers to see if and when temperature abuse occurred during transit. Many dealers use them to tell whether shippers are abiding by temperature requirements.

In the case of refrigerated trucks that are frequently opened to add other food items, ensure that shellfish are positioned so they stay cool during transport.

EDUCATE YOUR DEALERS AND BUYERS

Make sure your shellfish are handled properly as soon as they are turned over to the dealer. They can start the cooling immediately by spraying the shellfish with cold water. Don't let the dealer delay putting your harvest into refrigeration, and ensure that they have proper temperature controls in place.

BE A SHELLFISH PROFESSIONAL

By working proactively to ensure that everyone in our industry is keeping shellfish cool we can reduce illnesses, keep harvest areas open and avoid additional costly regulations.

FOR MORE INFORMATION CONTACT:

East Coast Shellfish Growers Association
(401) 783-3360 or ebog@ECGSA.org
Visit our website: www.ECGSA.org
or contact your state Shellfish Control Authority listed at www.issc.org

From Harvest to Table

THE PERFECT SHELLFISH

Made possible with support from:

Shellfish are delicious, nutritious and vital — if handled properly. That means using appropriate time and temperature control to slow or stop bacterial growth which will help reduce illnesses.

WHAT ARE VIBRIO BACTERIA?

Vibrio parahaemolyticus, (Vp) and Vibrio vulnificus (Vv) are naturally occurring bacteria that proliferate during warm weather. Shellfish can concentrate vibrios as they feed and if the shellfish are eaten raw (low bacteria can make your customers ill. Eating raw or undercooked shellfish when Vv bacteria are present at high levels can cause the like symptoms known as gastroenteritis (diarrhea, vomiting, headache, fever and chills). Symptoms can sometimes require hospitalization. Even worse, if an immune compromised individual consumes shellfish contaminated with Vv, it may cause serious illness or possibly even death.

HOW TO REDUCE OR ELIMINATE ILLNESSES CAUSED BY VIBRIOS

Vibrio bacteria thrive at higher temperatures, and when shellfish are warm the bacteria can multiply at alarming rates. Temperature control is the best way to limit bacterial growth and ensure that producers deliver the safest possible product to consumers. Bacterial growth slows at low temperatures and stops altogether below 45° F. To reduce or eliminate bacterial growth harvesters should take every precaution to chill their catch. Refrigeration immediately after harvest and throughout the chain of distribution — from wholesale to retail to final consumption — is critical in assuring that shellfish arrive on the consumer's plate in optimum condition.

HARVEST OPTIONS

During hot weather, depending on conditions in your growing area and harvest practices, the level of vibrios in shellfish at the time of harvest may already be high enough to cause illness even if temperature abuse does not occur. Several harvest methods can reduce or eliminate this risk, including:

- Harvesting shellfish from below the thermocline, where temperatures are several degrees cooler than at the surface.
- Harvesting shellfish before the tide goes out completely. Shellfish on exposed tidal flats can get very warm.
- Collecting shellfish in bags, baskets or cages, and then holding them submerged (preferably in cool, deep water) until harvest. For this to work properly shellfish must be held in such a way that they can continue filtering water to allow themselves to purge accumulated bacteria.
- Watch for stray shellfish. When emptying cages or baskets be certain no strays get left behind!

POST-HARVEST TEMPERATURE CONTROL

The safest shellfish are placed under temperature control (under 45°F) the better. Harvest begins at the time the first shellfish is exposed to the air, either on dock or when the tide recedes. At 80°F vibrio levels can double every hour.

ACHIEVING AND MAINTAINING TEMPERATURE CONTROL

Temperature can be controlled through mechanical refrigeration, icing, or the use of gel packs. Studies have shown that direct icing can reduce shell life of clams, especially when growing waters are exceptionally warm, but a layer of cloth between the shellfish and ice can prevent this. Make sure that the container can drain so no shellfish are sitting in ice melt water.

Regardless of the method of temperature control used, make sure that shellfish in the center of the container get cooled as well. Providing shade to keep shellfish out of the sun can make a big difference. Once the shellfish are landed you can cool them with a spray of cold fresh water from an approved source.

Each state has established harvest protocols to determine the hours of harvest and maximum time to refrigeration in order to minimize bacterial growth.

Considerazioni conclusive

- I Molluschi bivalvi sono implicati da sempre nella trasmissione di malattie gastroenteriche.
- I dati epidemiologici disponibili risultano sottostimati: in molti casi il consumo di MB provoca solo sintomi gastrointestinali di lieve entità che non richiedono alcun intervento medico.
- I Molluschi bivalvi possono essere raccolti solo da aree classificate. La classificazione è una valutazione del rischio di contaminazione fecale da fonti umane o animali con quantificazione di *E.coli* come germe indicatore
- La presenza di batteri di indice di contaminazione fecale non è correlata alla presenza di virus o batteri quali le *Vibrionaceae*, microrganismi patogeni normalmente presenti nell'ambiente marino.
- È prevista la possibilità di depurare tutte le specie di molluschi
- Pochi dati sull'efficacia della depurazione nei confronti dei virus e vibrios.

Abitudini!!!



grazie
per
l'attenzione !

