



ACQUAINNOVA^{2.0}

Sicurezza microbiologica della filiera ittica... dai mangimi al filetto: aspetti normativi, metodologici e risultati preliminari.

Giuseppe COMI, Lucilla IACUMIN



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI UDINE**
hic sunt futura



**CIHEAM
BARI**

ACQUAINNOVA^{2.0}
acquainnova.org

Importante la sostenibilità e nuove fonti proteiche
Poi però il prodotto deve essere edibile e avere una shelf-life adeguata

- Elevato tenore di acqua.
- Elevata presenza di sostanze azotate non proteiche.
- Frazione lipidica insatura.
- Ridotta % di glucosio e valore pH post-mortem elevato.
- Ridotta concentrazione di connettivo.

Tabella 5.7 Composizione chimica percentuale media di pesci, crostacei e molluschi

| | <i>Acqua</i> | <i>Carboidrati</i> | <i>Proteine</i> | <i>Grassi</i> | <i>Ceneri</i> |
|---------------------------|--------------|--------------------|-----------------|---------------|---------------|
| Pesci ossei | | | | | |
| Pesce azzurro | 74,6 | 0,0 | 20,5 | 4,0 | 1,2 |
| Merluzzo | 82,6 | 0,0 | 16,5 | 0,4 | 1,2 |
| Eglefino | 80,7 | 0,0 | 18,2 | 0,1 | 1,4 |
| Ippoglosso | 75,4 | 0,0 | 18,6 | 5,2 | 1,0 |
| Aringa (Atlantico) | 67,2 | 0,0 | 18,3 | 12,5 | 2,7 |
| Sgombro (Atlantico) | 68,1 | 0,0 | 18,7 | 12,0 | 1,2 |
| Salmone (Pacifico) | 63,4 | 0,0 | 17,4 | 16,5 | 1,0 |
| Pesce spada | 75,8 | 0,0 | 19,2 | 4,0 | 1,3 |
| Crostacei | | | | | |
| Granchio | 80,0 | 0,6 | 16,1 | 1,6 | 1,7 |
| Aragosta | 79,2 | 0,5 | 16,2 | 1,9 | 2,2 |
| Molluschi | | | | | |
| Molluschi bivalvi (polpa) | 80,3 | 3,4 | 12,8 | 1,4 | 2,1 |
| Ostriche | 80,5 | 5,6 | 9,8 | 2,1 | 2,0 |
| Cappesante | 80,3 | 3,4 | 14,8 | 0,1 | 1,4 |

(Da Watt e Merrill⁹⁹)

Tabella 5.8 Distribuzione dell'azoto nelle carni di pesci, crostacei e molluschi

| <i>Specie</i> | <i>% di N totale</i> | <i>% di N proteico</i> | <i>Rapporto tra N proteico e N totale</i> |
|----------------------|----------------------|------------------------|---|
| Merluzzo (Atlantico) | 2,83 | 2,47 | 0,87 |
| Aringa (Atlantico) | 2,90 | 2,53 | 0,87 |
| Sardina | 3,46 | 2,97 | 0,86 |
| Eglefino | 2,85 | 2,48 | 0,87 |
| Aragosta | 2,72 | 2,04 | 0,75 |

(Da Jacquot⁵⁵, copyright © 1961 Academic Press)

Composti azotati non proteici presenti nel muscolo di vari animali

| Muscolo di ... | Quantità di estrattivi azotati non proteici (mg/100 g) |
|--|---|
| Mammiferi | 900 |
| Merluzzo | 1.400 |
| Aringa | 1.150 |
| Squaloidei e raidi (squali e razze) | 3.000 |
| Aragosta e astice | 3.500 |

TITOLO

Sottotitolo



Proteine del tessuto connettivo

Collagene, elastina, difficilmente attaccate dagli enzimi muscolari della frollatura.

Percentuale di tessuto connettivo:

- ❑ 8-22% delle proteine totali delle carni di bovino
- ❑ 15% circa delle proteine totali delle carni di coniglio
- ❑ **8-10% delle proteine totali delle carni di selacei**
- ❑ **3-5% delle proteine totali delle carni di pesci ossei**

| | Ottimo | Accettabile |
|------------------------------|--------|-------------|
| TVN: mg N/100 g | < 20 | < 30 |
| Dec. 95/149/CE di 08/03/1995 | | |

Prima fase:

autolisi ad opera di processi enzimatici endogeni che predispone alla moltiplicazione batterica

Seconda fase:

fase della moltiplicazione batterica, che avviene più rapidamente rispetto alle carni di mammiferi per il pH più elevato e spesso prevale nel deterioramento dei pesci refrigerati.

Con la morte del pesce si interrompe l'apporto di O₂

Inizia la glicolisi anaerobia con produzione di acido lattico a partire da glicogeno

- da 6,8 a 6,1 in merluzzo
- a 5,8 - 6,0 in sgombro
- a 5,4 – 5,6 in tonno e halibut

Esaurito il glicogeno inizia la proteolisi autolitica ad opera di enzimi attivati dal pH più acido

- Responsabile del progressivo rammollimento dei tessuti del pesce.
- Le proteasi intestinali causano autolisi della zona addominale nel pesce non eviscerato
- Inizia la degradazione di proteine e composti azotati non proteici
- Si formano peptidi a corta catena e aminoacidi.
- Il substrato diventa molto favorevole allo sviluppo batterico.

- Nucleotidi: il principale è ATP che alla morte del pesce si degrada enzimaticamente
- ATP \Rightarrow ADP \Rightarrow AMP \Rightarrow IMP (odore pesce fresco)
- \Rightarrow Inosina \Rightarrow Ixoxantina (sapore amaro pesce stantio)
- \Rightarrow Xantina \Rightarrow acido urico
- 30 mg/100 g è il limite di accettabilità di buona freschezza

I batteri intervengono:

- Nella scissione di peptidi a corta catena e degli aminoacidi prodotti dalle prime fasi della proteolisi autolitica.
- Nella degradazione del TMAO.
TMA < 5 mg/100g pesce fresco
5 < TMA < 20 inizio alterazione
- Nella seconda fase della degradazione di ATP.

**Valori limite di ABVT per talune categorie di prodotti della
pesca ed i metodi di riferimento (Reg. (CE) 2074/2005:
valori limite e metodi di riferimento)**



| | | |
|-----------|---|----------------------|
| A. | Sebastes sp. <i>Helicolenus dactylopterus</i> <i>Sebastichthys capensis</i> | 25 mg N/100 g |
| B. | Specie appartenenti alla famiglia dei PLEURONETTIDI (escluso l'halibut: <i>Hippoglossus sp.</i>) | 30 mg N/100 g |
| C. | <i>Salmo salar</i> Specie appartenenti alla famiglia dei MERLUCCIDI Specie appartenenti alla famiglia dei GADIDI | 35 mg N/100 g |

- Fosfolipidi – trigliceridi ----- acidi grassi liberi
- Segue processo autocatalitico con ossidazione di acidi grassi polinsaturi ---- idroperossidi
- ----- chetoni, aldeidi, alcoli, alcani e idrocarburi (etano e pentano) responsabili dell' odore di rancido del pesce.
- Gli idroperossidi derivano anche dall' azione enzimatica di lipoossigenasi presenti nelle branchie.
- Valori Dialdeide malonica: fino a 6 ppm

Tab. 10. Composti volatili del muscolo di pesce alterato.

| | |
|--------------------|------------------|
| Etanolo | Metanolo |
| Etilmercaptano | Metilmercaptano |
| Dimetilsolfuro | Dimetildisolfuro |
| Acetone | Acetoino |
| Butanale | Etanale |
| Metilbutanale | Diacetile |
| Idrogeno solforato | Aldeide acetica |
| Aldeide propionica | Formaldeide |
| Urea | Ammoniaca |
| Etilacetico | Etilpropionico |
| Etilbutirrico | Etilsesanoico |



ACQUAINNOVA^{2.0}

Tab. 2. Principali amine biogene prodotte da microrganismi nel muscolo di prodotti ittici.

| | | |
|------------|-------|----------------------|
| Triptofano | ————— | Triptamina |
| Istidina | ————— | Istamina |
| Ornitina | ————— | Putrescina |
| Lisina | ————— | Cadaverina |
| Arginina | ————— | Spermina, spermidina |
| Tirosina | ————— | Tiramina |

| | | | |
|----------|--------------|--------|--------|
| Istamina | REG. CE 2073 | 7 U.C. | 2 U.C. |
| (Fresco) | ppm | < 100 | < 200 |



Figure 1. Diffuse reddening of the face, neck and upper chest and back



Figure 2. Complete resolution of the eruption after 1 hour, without treatment



- Trattenuta dalle Branchie ---→ Masse muscolari

Da 10^3 a 10^9 ufc/g

- Presente in intestino: (stomaco/intestino - enzimi digestivi) Diffondono nelle masse muscolari alla morte del pesce.

Da 10^3 a 10^9 ufc/g

- Cute: i pesci che vivono vicino ai fondali, a stretto contatto con il limo che può contenere elevate cariche batteriche, avranno sulla cute una flora microbica abbondante.

Da 10^2 a 10^7 ufc/cm²

- Meno contaminati i pesci pelagici.

⇒ nei pesci di acque temperate e calde è formata

Gram negativi aerobi o aerobio-anaerobio facoltativi

(*Pseudomonas*, *Moraxella/Acinetobacter*, *Flavobacterium/Cytophaga*, *Xanthomonas*, *Vibrio marini*)

Gram positivi (*Bacillus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* e altre coccacee, lactobacillacee)

⇒ nei pesci di acqua fredda predominano microrganismi

Gram negativi sulla cute

Gram positivi nel contenuto intestinale (*Clostridium*, *Bacillus*, coryneformi)

Shewanella putrefaciens - TMA – H₂S – metilmercaptano – dimetilsolfito - ipoxantina

Photobacterium phosphoreum – TMA - Ipoxantina

Pseudomonas spp. – Chetoni – Aldeidi – Esteri – solfiti non H₂S

Vibrionaceae - TMA – H₂S

Anaerobi - NH₃ – Acido acetico – butirrico – propionico

- ❑ La microflora *esogena* comincia ad accumularsi sul pesce quando questo viene in contatto con l'ecosistema terrestre:
 - ⇒ Da Scarichi industriali e urbani, fiumi contaminano i pesci che vivono abitualmente in vicinanza della costa
 - ⇒ da lavorazioni o manipolazioni da parte dell' uomo
 - ⇒ **Mangimi, ambiente allevamento, uomo**

È una popolazione formata da batteri, virus, lieviti e muffe di origine terrestre

⇒ origine : contenuto intestinale di animali a sangue caldo o ambiente terrestre in genere.

❑ È formata da microrganismi potenzialmente patogeni per l'uomo (*Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio* patogeni, *Clostridium botulinum*, virus enterici, *E. coli* enterotossigeni, ceppi enterotossici di *S. aureus* e *Bacillus cereus*).

❑ Vi rientrano anche microrganismi alteranti o indicatori di inquinamento fecale: enterobatteriacee in genere, coliformi totali e fecali, *Pseudomonas* spp., enterococchi

L' esposizione a lungo termine a basse concentrazioni di alcuni contaminanti può essere associata a gravi malattie come danni neurologici, difetti congeniti e cancro.

Metalli pesanti

Composti organici (idrocarburi)

PCB

Materie Plastiche

Parassiti (es. *Anisakis*)

Biotossine algali

Farmaci usati in acquacoltura

Vibrio cholerae, V. parahaemolyticus, V. fluvialis

Salmonella spp. - *Salmonella typhimurium*

Staphylococcus aureus

Shigella

Clostridium perfringens

Virus (Enterovirus, HAV)

Principali organismi di malattia alimentare associati ai prodotti della pesca



ACQUAINNOVA^{2.0}

| Patogeno | MID tossina o cellule vive | Ambiente primario |
|---|--|--|
| Batteri di origine acquatica | | |
| C. botulinum tipo E | 0,1- 1 µg tossina | Ubiquitario nell'ambiente acquatico, suolo, sedimento oceanico, tratto intestinale del pesce, superficie pesce |
| Vibrio spp. marino | | |
| V. cholerae | 10 ⁸ ufc/g | Acque di estuario e costiere calde (>15°C), intestino pesce che si nutrono di molluschi, visceri ostriche |
| V. parahaemolyticus | 10 ⁵ - 10 ⁶ ufc/g | |
| V. vulnificus | Non noto | |
| Batteri che producono istamina | >100 mg istamina/100 g | Membri delle Enterobacteriaceae dall'ambiente acquatico |
| Dinoflagellati, forse batteri associati a alghe | Tossina PSP | Ambiente acquatico, accumulo nei bivalvi |
| Batteri ambientali | | |
| L. monocytogenes | Non noto - 10 ⁸ ufc/g | Diffuso in natura, suolo, feci, ambienti di trasformazione pr. pesca |
| C. botulinum (mesofilo) | | Diffuso nel suolo |
| Batteri origine umana e animale | | |
| Shigella spp. | 10 ² – 10 ⁵ ufc/g | Regioni costiere o stagni con inquinamento fecale e contaminazione fecale dei pr. pesci |
| Salmonella spp. | 10 – 10 ⁶ | |
| Escherichia coli | 10- 10 ⁸ | |
| Staphylococcus aureus | 0,14-0,19 µg tossina /kg p.c. | Acque stagnanti, vettore umano (causa contaminazione post pesca) |
| Virus | | |
| Epatite A | Il virus vivo può infettare l'uomo | Inquinamento fecale acque, accumulo nei molluschi |
| Norwalk virus | | |
| Alghe | | |
| Dinoflagellati | Es. ciguatera, PSP, ASP, DSP, ASP | Acque aperte, acque marine tropicali, accumulo in molluschi |
| Parassiti | Alcuni parassiti vivi possono infestare l'uomo | Pesce e molluschi |

Fattori influenzanti o limitanti la crescita



ACQUAINNOVA^{2.0}

Table 5.6 Growth limiting factors of pathogenic bacteria indigenous to the aquatic and the general environment (adapted from Huss, 1994; ICMSF, 1996).

| Pathogenic bacteria | Temperature, °C | | pH | a _w | NaCl (%) |
|---------------------------------|-----------------|---------|---------|----------------|----------|
| | minimum | Optimum | minimum | minimum | maximum |
| <i>Clostridium botulinum</i> | | | | | |
| Proteolytic, type A, B, F | 10 | 35-40 | 4.6 | 0.94 | 10 |
| non-proteolytic, type B, E, F | 3.3 | 25-28 | 5.0 | 0.97 | 3-5 |
| <i>Vibrio</i> spp. | | | | | |
| <i>V. cholerae</i> | 10 | 37 | 5.0 | 0.97 | (8 |
| <i>V. parahaemolyticus</i> | 5 | 37 | 4.8 | 0.93 | 8-10 |
| <i>V. vulnificus</i> | 8 | 37 | 5.0 | 0.96 | 5 |
| <i>Plesiomonas shigelloides</i> | 8 | 37 | 4.0 | | 4-5 |
| motile <i>Aeromonas</i> spp. | 0-4 | 28-35 | 4.0 | 0.97 | 4-5 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 0-2 | 30-37 | 4.6 | 0.92 | 10 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 4 ¹ | 30-40 | 5.0 | 0.93 | 10 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 12 | 43-47 | 5.5 | 0.93 | 10 |

1. Most strains of *B. cereus* are mesophilic with minimum temperature of approximately 8-10°C, however, psychrotrophic variants have been isolated

● Paesi in via di sviluppo

- Casi di : *V. cholera*, *Campylobacteriosis*, *Escherichia coli*,
- *Salmonellosis*, *Shigellosis* and *Hepatitis A*.
- Incidenza annuale 1.5 milioni di episodi di diarrea da prodotti ittici:
- + di 3 milioni di morti

● Australia

- 4.2 milioni di casi/anno

● USA

- da 3.3 a 12.3 milioni di casi
- Oltre 3,900 morti



Table 3. Sample-wise prevalence of different pathogens during the study of cultured shrimps

| Pathogens | Particulars | During farming ^a | | | | | At harvest ^b | | |
|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------|--------|-----------|-----------------|-------------------------|-------|--------|
| | | Sediment | Water | Shrimp | Clam meat | Formulated feed | Sediment | Water | Shrimp |
| <i>Salmonella</i> | Total typical colonies | 105 | 110 | 80 | 80 | 60 | 40 | 20 | 40 |
| | No. positive | 30 | 40 | 30 | 24 | 15 | 6 | 12 | 05 |
| | Prevalence (%) ^c | 28.8 | 37.4 | 37.5 | 31.2 | 25.6 | 16.7 | 54.5 | 12.5 |
| <i>Vibrio</i> spp. | Total typical colonies | 130 | 146 | 125 | 90 | 83 | 76 | 54 | 39 |
| | No. positive | 62 | 57 | 51 | 38 | 10 | 26 | 15 | 17 |
| | Prevalence (%) ^c | 48.0 | 39.0 | 41.0 | 42.0 | 12.0 | 34.0 | 28.0 | 43.5 |
| <i>Listeria</i> spp. | Total typical colonies | 116 | 120 | 75 | 145 | 20 | 43 | 47 | 69 |
| | No. positive | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 3 | 0 | 2 |
| | Prevalence (%) ^c | 0 | 0 | 0 | 4.8 | 0 | 6.9 | 0 | 2.9 |

^a Includes samples collected before stocking also.^b Clam meat and formulated feed samples were not analysed at harvest.^c As positive isolates.Table 4. Prevalence of various *Vibrio* species in different samples during the study of cultured shrimps

| Species of <i>Vibrio</i> | During farming ^a | | | | | At harvest | | |
|---|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------------|------------|----------|----------|
| | Sediment | Water | Shrimp | Clam meat | Formulated feed | Sediment | Water | Shrimp |
| <i>V. parahaemolyticus</i> K ⁺ | 1 (1.6) ^b | 2 (3.5) | 1 (1.9) | 3 (7.9) | ^c ND | ND | 1 (6.7) | ND |
| <i>V. parahaemolyticus</i> K ⁻ | 21 (33.8) | 14 (22.6) | 13 (25.5) | 15 (39.5) | 2 (20.0) | 4 (15.4) | 3 (20.0) | 3 (17.7) |
| <i>V. alginolyticus</i> | 24 (38.7) | 15 (26.3) | 29 (56.9) | 10 (26.3) | ND | 18 (69.2) | 5 (33.3) | 8 (47.0) |
| <i>V. cholerae</i> | 12 (19.3) | 12 (21.0) | 2 (3.9) | 1 (2.6) | 6 (60.0) | 1 (3.9) | 3 (20.0) | 2 (11.8) |
| <i>V. vulnificus</i> | 4 (6.6) | 14 (26.6) | 6 (11.8) | 7 (18.5) | 2 (20.0) | 3 (11.5) | 3 (20.0) | 4 (23.5) |
| <i>V. mimicus</i> | ND | ND | ND | 2 (5.2) | ND | ND | ND | ND |
| Total no. of <i>Vibrio</i> spp. | 62 | 57 | 51 | 38 | 10 | 26 | 15 | 17 |

^a Includes samples collected before stocking also.^b Values in parentheses indicate prevalence percentage of that species in that sample.^c Not detected.Prevalence of bacteria of public health significance in the cultured shrimp (*Penaeus monodon*)

N. Bhaskar*, T. M. R. Setty, S. Mondal, M. A. Joseph, C. V. Raju, B. S. Raghunath and C. S. Anantha

N. Bhaskar et al. Food Microbiology, 1998, 15, 511–519

Table 5. Prevalence of various *Listeria* species in different samples during the study of cultured shrimps

| Species of <i>Listeria</i> | During farming ^a | | At harvest ^b | |
|----------------------------------|-----------------------------|--|-------------------------|----------|
| | Clam meat | | Sediment | Shrimp |
| <i>L. monocytogenes</i> | ND ^c | | ND | ND |
| <i>L. innocua</i> | 02 (66.66) | | 01 (33.3) | ND |
| <i>L. grayi</i> | ND | | ND | ND |
| <i>L. seeligeri</i> | 01 (33.33) | | 01 (33.3) | 02 (100) |
| <i>L. welshmeri</i> | ND | | 01 (33.3) | ND |
| <i>L. murrayi</i> | ND | | ND | ND |
| Total no of <i>Listeria</i> spp. | 03 | | 03 | 03 |

^a Includes samples collected before stocking also.

^b All samples of sediment, water, shrimp during farming and water samples at harvest were negative for *Listeria* spp.

^c Not detected.

^d Values in parentheses indicate percentage prevalence of that species in that sample.

La maggior parte delle specie sono mesofile ed il loro N. aumenta nella stagione calda.
Di 34 specie, 13 causano malattia nell' uomo.

Presenza dipendono da: Temperatura, salinità, densità algale;
non sono correlati con i patogeni fecali o indicatori di patogeni fecali umani.

Le specie più importanti sono:

V. parahaemolyticus: malattia gastrointestinale

V. cholerae: malattia gastrointestinale

V. vulnificus: condizione setticemica

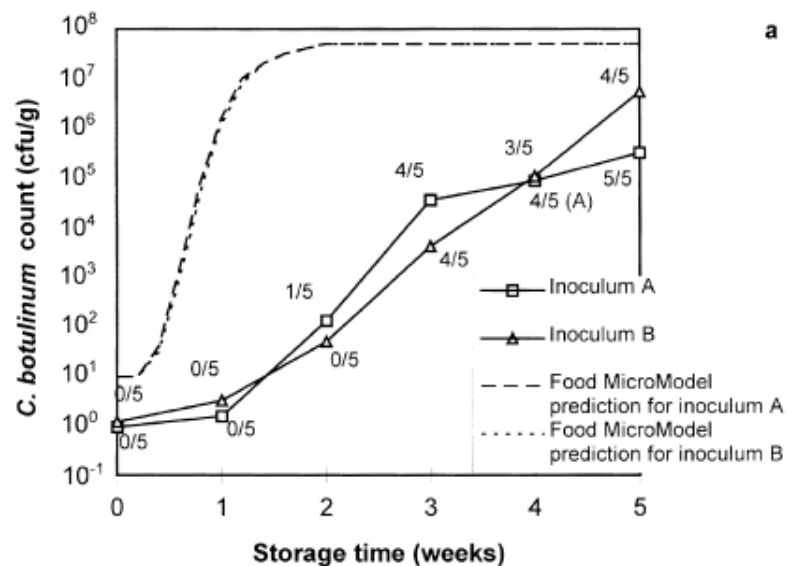
Clostridium botulinum

TABELLA 1. GRUPPI E TOSSINOTIPI BOTULINICI, SPECIE ANIMALI SENSIBILI E FONTI DI INTOSSICAZIONE/TOSSINFEZIONI

| Gruppo | Tossinotipo | Specie sensibile | Fonti principali |
|-----------------------|--------------------------------------|---|--|
| I (proteolitico) | A | Uomo | Conserve (domestiche) a ridotta acidità |
| | B | Uomo Bovino, cavallo | Conserve (domestiche) a ridotta acidità Fieno e foraggio contaminato da carcasse di piccoli animali |
| | F | Uomo | (raro) |
| II (non proteolitico) | B | Uomo | Prosciutto domestico stagionato |
| | E | Uomo Salmonidi, (uccelli) | Prodotti della pesca Cannibalismo, consumo di carcasse |
| | F | Uomo | (raro) |
| III | C (C ₁ e C ₂) | Uccelli spc. palmipedi, pollame, fagiani Bovino, cavallo, visone, altre specie | Consumo di carcasse di vertebrati e invertebrati Fieno, foraggi, rifiuti avicoli contaminati da carcasse di piccoli animali |
| | D | Bovino, ovino | Consumo di carcasse o ossa di piccoli animali |
| IV | G | ? | ? |



**Trota fresca
Inoculata 150 UFC/g
Conservata a 6° C**



**Trota fresca
Inoculata
Conservata a 8° C**

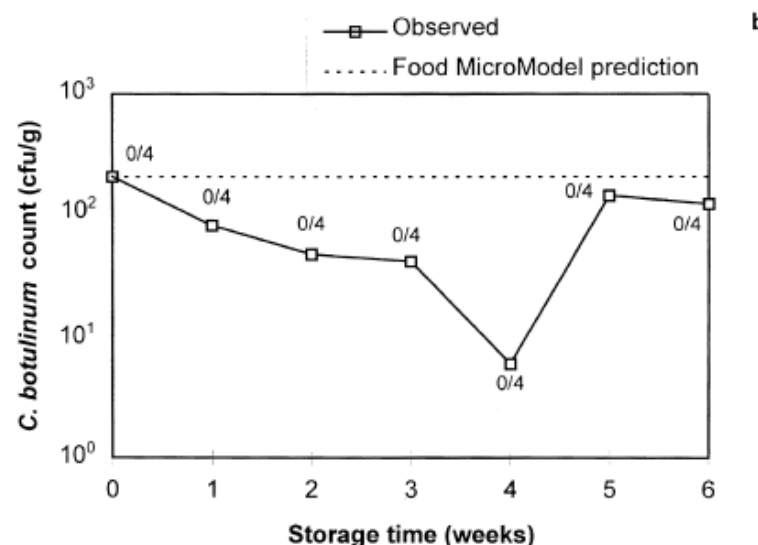


Fig. 1. Predicted growth for *Clostridium botulinum* type E (a) with two low level inocula of A and B in vacuum-packaged unprocessed rainbow trout stored at 8°C for 5 weeks and (b) with a high level inoculum in vacuum-packaged raw pickled rainbow trout stored at 6°C for 6 weeks with observed growth and toxin production. Ratios indicate the number of toxic samples over the number of samples analyzed.

Listeria monocytogenes

Dati epidemiologici evidenziano l'associazione di Listeriosi a cibi affumicati, pronti al consumo (RTE ready to eat) che non vengono ulteriormente trattati al calore prima del consumo

Non è isolata da pesce catturato o allevato ma contamina il prodotto durante la trasformazione, con livelli di presenza da 3 a 40% nei RTE e fino a 80% in alcuni affumicati.

Questo è dimostrato dal ritrovamento del batterio in prodotti cotti che hanno subito trattamenti listericidi. La pulizia e la disinfezione rimuovono temporaneamente *L. monocytogenes* che trova nicchie più o meno permanenti negli scarichi e zerbini.

| Product | No. of samples | % positive for | |
|--------------------|----------------|----------------|------------------|
| | | Listeria spp. | L. monocytogenes |
| Fresh shrimp | 74 | nd | 11 |
| Fresh shrimp | 178 | nd | 17 |
| Slaughtered fish | 50 | 2 | 0 |
| Ceviche | 32 | 75 | 9 |
| Cold-smoked salmon | 61 | nd | 0 |
| Cold-smoked salmon | 100 | nd | 24 |
| Smoked salmon | 65 | 11 | 11 |
| Hot-smoked fish | 142 | 25 | 5 |
| Seafood salads | 37 | 32 | 16 |
| Cooked blue crab | 126 | 10 | 8 |

Riconosciute solo 2 specie:

S. enterica, 6 sottospecie, ognuna con molti sierotipi.

S. bongori

S. enterica subsp. *enterica*: 1500 sierotipi (*enteritidis*, *typhimurium* or *typhi*. Gli altri sierotipi sono indicati con la formula antigenica).

Il numero di casi da prodotti della pesca è in aumento.

Dose infettante: 10^6 cellule, o anche 10-100 se l' alimento contiene molto grasso che protegge la S. e l' individuo è un bambino o appartiene a gruppi sensibili.

S. aureus è associato a malattia alimentare. L'origine è animale, compreso l'uomo, aperture naturali e ferite infette.

La malattia è un'intossicazione causata da tossine preformate nei cibi: prerequisito lo sviluppo del microorganismo nell'alimento fino a conte di almeno 10^6 ufc/g.

Le tossine resistono alle proteasi, al riscaldamento ed alla bollitura per un certo tempo.
Le tossine sono 7 con un primo effetto neurologico (centro del vomito).

La malattia è in genere breve e si limita da sola.

Si calcola che solo 1-5% dei casi sono riconosciuti e riportati, con maggiore frequenza nella stagione calda e in Novembre e Dicembre, dovuta a feste e relativi avanzi di cibo.

I ceppi enterotossinogeni sono trasferiti ai pesci dall'uomo (infezioni alle mani e mal di gola).

E. coli è il più comune organismo aerobio dell'intestino dell'uomo e degli animali a sangue caldo. La maggior parte dei ceppi è inoffensiva e forse svolge un ruolo importante nel mantenere la fisiologia intestinale.

Si differenziano per gli antigeni somatici (O), flagellari (H), capsulari (K).

Alcuni ceppi sono patogeni e causano malattia diarroica e si distinguono per virulenza, sintomi e distinti antigeni O:H

enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

diffuse-adhering *E. coli* (DAEC)

enteroaggregative *E. coli* (EAggEC)

enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) or verotoxic *E. coli* (VTEC).

C. jejuni è una zoonosi con diversi animali quali serbatoio.

C. jejuni e in alcuni casi *C. coli* causano malattia diarroica.

Talvolta causano una malattia neurologica, la sindrome di Guillian-Barrè .

Dose infettiva bassa: < 1000 ufc

I batteri muoiono rapidamente in acque marine aperte ma si accumulano nei molluschi dove sono protetti.

Positività nei molluschi fino al 42 % per *Campylobacter* mesofili.

Non crescono sotto i 28-30°C e sono sensibili all'ossigeno.

Non si sviluppano a T di refrigerazione, ma possono sopravvivere.

Sensibili al riscaldamento.

Il loro controllo nei prodotti della pesca è semplice.

Il controllo di questo pericolo si basa sulla coltivazione di molluschi in acque pulite.

Virus



Parassiti intracellulari obbligati

Parassitismo tipo genetico

Origine dei patogeni in pesci da acquacoltura

Naturale

Ambienti di allevamento (attrezzature)

Mangimi

Uomo

Microbial Quality of Raw Aquacultured Fish Fillets Procured from Internet and Local Retail Markets[†]

S. PAO,* M. R. ETINGER, M. F. KHALID, A. O. REID, AND B. L. NERRIE

TABLE 2. Prevalence of bacterial contamination in raw fish fillets from retail markets

| Bacteria | Prevalence (%) ^a | | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|----------|---------|----------|--------|----------|---------|----------|-------|----------|
| | Overall | | Catfish | | Salmon | | Tilapia | | Trout | |
| | Local | Internet | Local | Internet | Local | Internet | Local | Internet | Local | Internet |
| Coliforms | 83.6 | 86.4 | 97.2 | 93.8 | 93.8 | 76.5 | 75.0 | 87.5 | 69.4 | 88.2 |
| <i>Escherichia coli</i> | 6.4 | 4.6 | 16.7 | 9.4 | 0.0 | 2.9 | 8.3 | 3.1 | 0.0 | 2.9 |
| <i>Listeria</i> spp. | 20.0 | 35.6 | 58.3 | 75.0 | 9.4 | 23.5 | 5.6 | 31.3 | 5.6 | 14.7 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 9.3 | 15.9 | 22.2 | 25.0 | 9.4 | 11.8 | 2.8 | 18.8 | 2.8 | 8.8 |

^a Prevalence was determined for samples obtained from local (central Virginia) or Internet (U.S.) markets in 2006 and 2007 (overall local and Internet sample numbers were 140 and 132, respectively; individual local or Internet fish sample numbers were ≥ 32). All fillets were negative for *Salmonella* and *E. coli* O157.

Indicative and Pathogenic Microbiological Quality of Aquacultured Finfish Grown in Different Production Systems

S. PULLELA,^{1*} C. F. FERNANDES,² G. J. FLICK,¹ G. S. LIBEY,³ S. A. SMITH,⁴ AND C. W. COALE⁵

TABLE 1. Effect of aquaculture production system on the indicative microbiological quality of various fish species: hybrid striped bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*), rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*), tilapia (*Oreochromis spp.*) and pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

| Fish species | Aquaculture system | Mean ^a log CFU/g of fish | | | | Mean ^a CFU/g |
|---------------------|--------------------|-------------------------------------|---------------|-----------------|-----------------|-------------------------|
| | | Aerobes ^b | Psychrotrophs | Total coliforms | Fecal coliforms | <i>E. coli</i> |
| Hybrid striped bass | Nonrecirculating | 3.48A | 3.51A | 2.41A | 0.36A | 0.00A |
| Hybrid striped bass | Recirculating | 3.62A | 3.92A,C | 1.71A | 2.19B,F | 0.00A |
| Rainbow trout | Nonrecirculating | 2.76C,D,F | 3.56A | 1.61A | 0.77A,D,E | 1.00B |
| Rainbow trout | Recirculating | 2.25B,D | 1.42B | 2.08A | 1.41B,D | 0.00A |
| Tilapia | Nonrecirculating | 4.41E | 4.42A,C | 2.84A | 2.81C,F | 0.00A |
| Tilapia | Recirculating | 3.09A,F | 3.45A | 2.33A | 1.14B,E | 0.45A |
| Pacu | Nonrecirculating | 4.95E | 4.95C | 2.67A | 3.14C | 0.16A |

^a Standard errors: Aerobes, ±0.189; psychrotrophs, ±0.418; total coliforms, ±0.432; fecal coliforms, ±0.324; and *E. coli*, ±0.162.

^b Means in the same column followed by the same letter are not significantly different ($P > 0.05$).

TABLE 2. Effect of production system on the incidence of bacterial human pathogens in aquacultured finfish

| Fish species | Aquaculture system | No. positive fish samples/no. tested (% positive) | | | | |
|---------------------|--------------------|---|------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------|
| | | <i>Listeria monocytogenes</i> ^a | <i>Salmonella</i> spp. | <i>Clostridium botulinum</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> | <i>E. coli</i> O157:H7 |
| Hybrid striped bass | Nonrecirculating | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 3/20 (15%) _B | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A |
| Hybrid striped bass | Recirculating | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 13/20 (6%) _C | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A |
| Rainbow trout | Nonrecirculating | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 10/20 (50%) _C | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A |
| Rainbow trout | Recirculating | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 6/20 (30%) _B | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A |
| Tilapia | Nonrecirculating | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 19/20 (95%) _D | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A |
| Tilapia | Recirculating | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A |
| Pacu | Nonrecirculating | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A | 0/20 (0%) _A |

^a Means in the same column followed by the same letter are not significantly different ($P > 0.05$).



TABLE 3. *Quantitative levels of Clostridium botulinum in aquacultured finfish*

| Fish species | Production system | <i>Clostridium botulinum</i> , mean MPN/g of fish | |
|---------------------|-------------------|---|---------|
| | | Mean | Range |
| Hybrid striped bass | Nonrecirculating | 0.35A | 0.0–2.3 |
| Hybrid striped bass | Recirculating | 1.12B,C | 0.0–2.3 |
| Rainbow trout | Nonrecirculating | 1.01B,D | 0.0–2.3 |
| Rainbow trout | Recirculating | 0.62A,C,D | 0.0–2.3 |
| Tilapia | Nonrecirculating | 1.25B | 0.0–2.3 |
| Tilapia | Recirculating | 0.00E | 0.0–0.0 |
| PACU | NONRECIRCULATING | 0.00E | 0.0–0.0 |

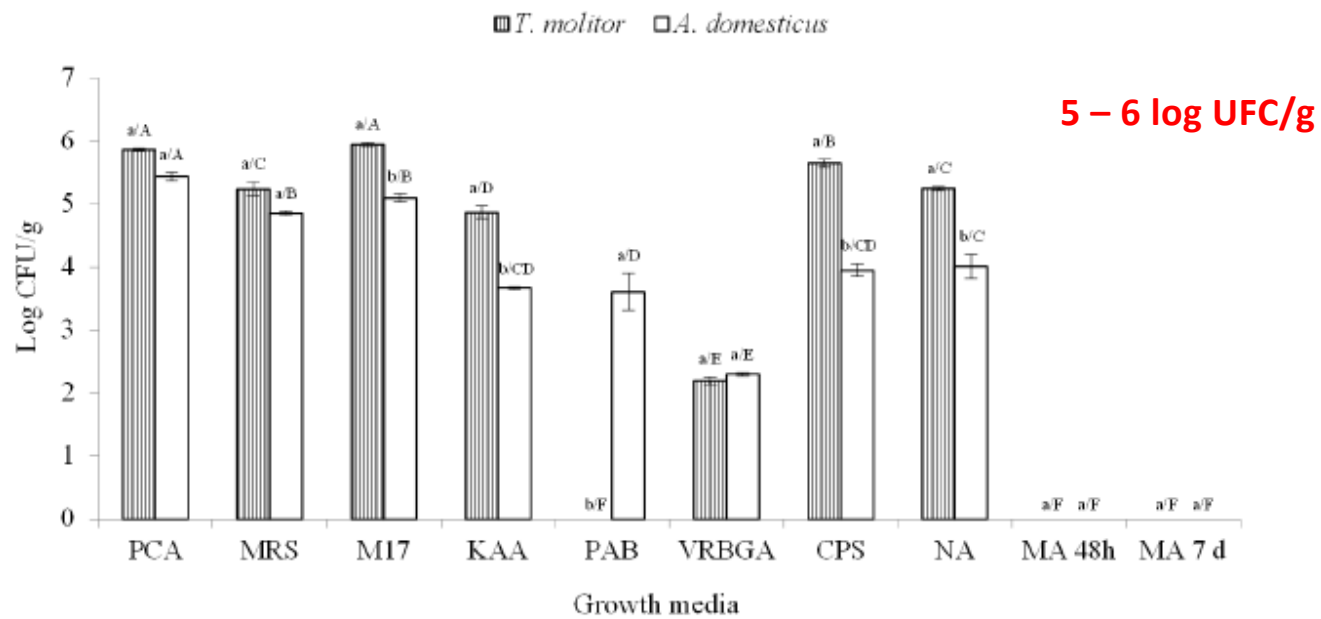
^o Means in a column followed by the same letter are not significantly different ($P > 0.05$).



Microbiological Profile and Bioactive Properties of Insect Powders Used in Food and Feed Formulations

Concetta Maria Messina¹, Raimondo Gaglio², Maria Morghese¹, Marco Tolone², Rosaria Arena¹, Giancarlo Moschetti², Andrea Santulli¹, Nicola Francesca² and Luca Settanni²

Foods **2019**, *8*, 400; doi:10.3390/foods8090400



Acheta domesticus (house cricket) and *Tenebrio molitor* (mealworm) w

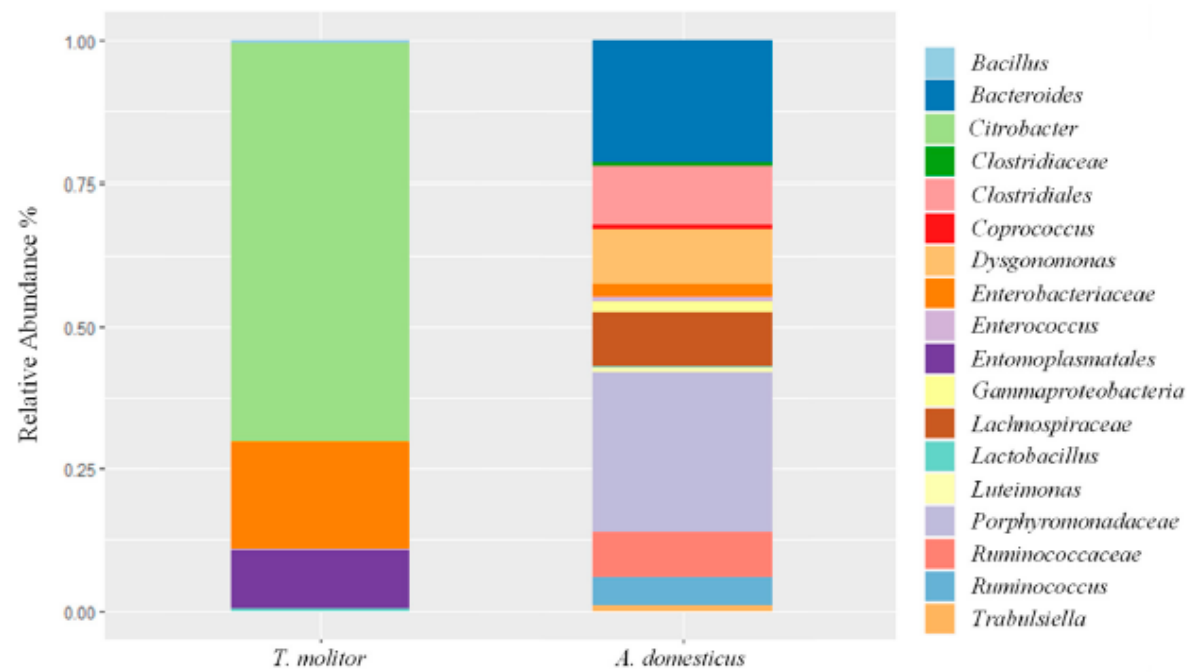


Figure 2. Relative abundances (%) of bacterial groups identified by MySeq Illumina in insect powders. Only taxonomic groups with at least two representative sequences per taxonomic unit were retained.

Table 2
Microbiota outcome of preservation and storage scenarios of house crickets (*Acheta domesticus*).

| Storage conditions | | Log cfu/g | Storage time (days) | | | | |
|--------------------------|---|--------------------|---------------------|------|------|------|------|
| | | | 0 | 2 | 6 | 10 | 16 |
| Refrigerator (5–7 °C) | Fresh | Total Viable Count | 7.2 | 8.3 | 8.1 | 8.0 | 8.2 |
| | | Enterobacteriaceae | 4.2 | 6.5 | 6.6 | 4.5 | 6.1 |
| | | Bacterial spores | 3.6 | 4.4 | 4.4 | 4.2 | 2.6 |
| | Boiled (1 min) | Total Viable Count | 3.1 | 3.3 | 3.8 | n.d. | 4.1 |
| | | Enterobacteriaceae | <1 | <1 | 1.3 | 1.3 | 3.2 |
| | | Bacterial spores | 2.0 | 2.8 | 2.4 | 2.0 | 2.0 |
| Ambient (28–30 °C) | Boiled (1 min) | Total Viable Count | 3.1 | 10.1 | sp | sp | sp |
| | | Enterobacteriaceae | <1 | >9 | | | |
| | | Bacterial spores | 2.0 | 7.8 | | | |
| | Boiled (5 min) dried* and ground | Total Viable Count | 5.4 | 5.6 | 5.5 | n.d. | n.d. |
| | | Enterobacteriaceae | <1 | <1 | 1.3 | | |
| | | Bacterial spores | 1.9 | 1.7 | 2.0 | | |
| | Boiled in acid (product pH 4.5)** | Total Viable Count | 3.0 | 2.6 | n.d. | n.d. | n.d. |
| | | Bacterial spores | 2.2 | 2.0 | | | |

sp: spoiled; n.d.: not determined; * dried at 55 °C for 24 h; **: Vinegar with 5% acetic acid. Single experiments, analysed in duplicate. Data represent mean values, with cv < 15%.

Microbiological aspects of processing and storage of edible insects

H.C. Klunder^a, J. Wolkers-Rooijackers^a, J.M. Korpela^b, M.J.R. Nout^{a,*}

Food Control 26 (2012) 628–631

Da 7 log a 3 log

Dopo bollitura sono umidi e quindi instabili

Per cui devono essere bolliti e disidratati

Insetti freschi

Table 1
Microbiota of fresh and heat-treated insects.

| Log cfu/g | Mealworm larvae (<i>Tenebrio molitor</i>) | | | | Small cricket (<i>Acheta domesticus</i>) | | | Large cricket (<i>Brachytrupus</i> sp.) | | | |
|--------------------|---|-----------------|---------|------------------|--|-------|----------------|--|-------|---------|----------|
| | Fresh | Boiled (10 min) | | Roasted (10 min) | | Fresh | Boiled (5 min) | Stir-fried (5 min) | Fresh | Boiled | |
| | | Whole | Crushed | Whole | Crushed | | | | | (5 min) | (10 min) |
| Total Viable Count | 7.7 | <1.7 | 2.5 | <1.7 | 4.8 | 7.2 | 1.7 | 2.7 | 6.7 | 2.5 | 2.8 |
| Enterobacteriaceae | 6.8 | <1 | <1 | 2.2 | 2.6 | 4.2 | <1 | <1 | 4.4 | <1 | <1 |
| Bacterial spores | 2.1 | <1 | 2.5 | 1.6 | <1 | 3.6 | 1.5 | 1.5 | 4.4 | 2.5 | 2.7 |

Single experiments, analysed in duplicate. Data represent mean values, with cv < 15%.

Abbattimento da 3 a 5 log UFC/g

Salmonella in fish feed; occurrence and implications for fish and human health in Norway

Bjørn Tore Lunestad ^{a,*}, Live Nesse ^b, Jørgen Lassen ^c, Birger Svihus ^d,
Truls Nesbakken ^e, Kåre Fossum ^b, Jan Thomas Rosnes ^f,
Hilde Kruse ^b, Siamak Yazdankhah ^g

Aquaculture 265 (2007) 1–8

| Serovar | Feed materials | | | | Feed | Factory samples | Humans | |
|-------------|---|---|---|--|------|-----------------|--------|--|
| | Feed material of vegetable origin, imported | Feed material of terrestrial animal origin, Norwegian | Feed material of marine animal origin, imported | Feed material of marine animal origin, Norwegian | | | | Environmental samples from Norwegian fish meal factories |
| Agona | | | 1 | | 1 | 4 | 18 | 12 |
| Senftenberg | 1 | | | 9 | 34 | 7 | 44 | 5 |
| Montevideo | | | | 21 | 65 | 5 | 2 | 10 |
| Mbandaka | 6 | 5 | | | | | 4 | 2 |
| Meleagridis | 7 | | | | | | | 0 |
| Havana | 3 | | | | | | | 1 |
| Cubana | 7 | | | | | | | 0 |
| Kentucky | 2 | | | | | 5 | 1 | 1 |
| Livingstone | | 1 | | | | 2 | | 48 ^b |
| Worthington | | | | | | | 1 | 1 |



25 **Table 3: Fate of microorganisms in gutted Sea Bass packaged under vacuum and stored at 6 ±**
26 **2 °C**

| Microorganisms | Time (days) | | | | |
|---|-------------|------------|------------|------------|------------|
| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 |
| Total viable count | 3.7 ± 1.2a | 5.7 ± 0.4b | 6.0 ± 0.2b | 7.4 ± 0.1c | 8.0 ± 0.4d |
| Enterobacteriaceae | 1.4 ± 0.1a | 3.5 ± 0.3b | 3.8 ± 0.3b | 4.3 ± 0.6b | 5.8 ± 0.1c |
| <i>Pseudomonas</i> spp. | 2.4 ± 0.7a | 2.0 ± 0.2a | 2.0 ± 0.3a | 2.1 ± 0.1a | 2.2 ± 0.1a |
| <i>E. coli</i> | < 10a | 2.7 ± 0.2b | 2.9 ± 0.1b | < 10a | 3.6 ± 0.6c |
| Total Coliforms | 1.6 ± 0.1a | 3.5 ± 0.1b | 3.3 ± 0.2b | 3.5 ± 0.1b | 5.1 ± 0.2c |
| <i>Clostridium</i> H₂S+ | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Lactic acid bacteria | < 10a | 3.7 ± 0.4b | 4.7 ± 0.2c | 6.0 ± 0.3d | 6.1 ± 0.7d |
| Enterococci | < 10a | < 10a | < 10a | 2.9 ± 0.3b | 3.4 ± 0.7b |

27 **Legend:** Data represent the means ± standard deviations of the total samples; Mean with the same
28 letters within a lanes (following the values), considering each single parameter, are not significantly
29 differently (P < 0.05). Analyses were conducted in triplicate on three different samples per each
30 sampling point. Data log CFU/g; < 10 CFU/g.

31
32 **Table 4: Physico-chemical values of gutted Sea Bass packaged under vacuum and stored at 6**
33 **± 2 °C**

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Moisture | 79.5 ± 0.3a | 77.6 ± 0.9b | 76.3 ± 0.9b | 77.2 ± 2.0b | 76.6 ± 0.8b |
| pH | 6.16 ± 0.03a | 6.03 ± 0.09a | 6.06 ± 0.07a | 5.91 ± 0.01a | 6.03 ± 0.04a |
| TVB-N | 12.9 ± 0.3a | 11.0 ± 3.5a | 21.0 ± 0.9b | 31.5 ± 1.3c | 39.0 ± 1.2d |
| TBARS | 1.6 ± 1.2a | 2.4 ± 1.2a | 2.8 ± 0.5a | 2.4 ± 0.6a | 2.6 ± 0.3a |

34 **Legend:** Moisture %, TVB-N - Total volatile basic nitrogen mg N/100g; TBARS: nmol
35 malonaldehyde/g. Data represent the means ± standard deviations of the total samples; Mean with
36 the same letters within a lanes (following the values), considering each single parameter, are not
37 significantly differently (P < 0.05). Analyses were conducted in triplicate on three different samples



Table 5: Fate of microorganisms in Sea Bream packaged under vacuum and stored at 6 ± 2 °C

| Microorganisms | Time (days) | | | | |
|--------------------------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 |
| Total viable count | 2.3 ± 0.1a | 2.3 ± 0.2a | 4.5 ± 1.5b | 5.4 ± 1.2b | 5.5 ± 1.9b |
| Enterobacteriaceae | 2.1 ± 0.3a | 2.0 ± 0.1a | 2.6 ± 0.3b | 2.3 ± 0.1b | 4.9 ± 0.4c |
| <i>Pseudomonas</i> spp. | 2.2 ± 0.3a | 2.0 ± 0.4a | 2.0 ± 0.5a | 2.1 ± 0.2a | 2.5 ± 0.3a |
| <i>E. coli</i> | < 10a | < 10a | 2.1 ± 0.1b | 2.2 ± 0.3b | 2.1 ± 1.1b |
| Total coliforms | < 10a | < 10a | 1.9 ± 0.8b | 2.0 ± 0.9b | 4.5 ± 0.8c |
| <i>Clostridium</i> H ₂ S+ | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Lactic acid bacteria | < 10 a | < 10 a | 2.4 ± 0.7b | 2.0 ± 0.1b | 5.5 ± 0.4c |
| Enterococci | 2.0 ± 0.1a | 2.0 ± 0.2a | 2.0 ± 0.2a | 2.1 ± 0.2a | 2.0 ± 0.1a |

Legend: Data represent the means ± standard deviations of the total samples; Mean with the same letters within a lanes (following the values), considering each single parameter, are not significantly differently (P< 0.05). Analyses were conducted in triplicate on three different samples per each

Table 6: Physico-chemical values of gutted Sea Bream packaged under vacuum and stored at 6 ± 2 °C

| Parameter | Time (Days) | | | | |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 |
| Moisture | 75.3 ± 0.1a | 75.6 ± 0.3a | 76.1 ± 0.2b | 76.2 ± 0.3b | 76.0 ± 0.2b |
| pH | 6.1 ± 0.1a | 6.0 ± 0.1a | 6.1 ± 0.1a | 5.9 ± 0.1a | 6.0 ± 0.1a |
| TVB-N | 12.3 ± 0.2a | 11.3 ± 1.5a | 22.0 ± 0.3b | 33.2 ± 0.3c | 35.0 ± 1.2d |
| TBARS | 1.2 ± 0.8a | 2.2 ± 0.9a | 2.4 ± 0.3a | 2.6 ± 0.3a | 2.7 ± 0.2a |

Legend: Moisture %, TVB-N - Total volatile basic nitrogen mg N/100g; TBARS: nmol malonaldehyde/g. Data represent the means ± standard deviations of the total samples; Mean with the same letters within a lanes (following the values), considering each single parameter, are not significantly differently (P< 0.05). Analyses were conducted in triplicate on three different samples per each sampling point.

Improving the Shelf-Life of Fish Burgers Made with a Mix of Sea Bass and Sea Bream Meat by Bioprotective Cultures

Lucilla Iacumin, Michela Pellegrini, Alice Sist, Giulia Tabanelli, Chiara Montanari, Cristian Bernardi and Giuseppe Comi

Microorganisms 2022, 10, 1786. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091786>

Table 7: Fate of microorganisms in UV packaged sea bass added with or without bioprotective cultures and glucose (0.1%) and stored at 6 ± 2 °C.

| Microorganisms | Time (days) | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | T0 | | | T7 | | | T14 | | |
| | C | St | StG | C | St | StG | C | St | StG |
| Total viable count | 2.0 ± 0.2a | 2.0 ± 0.1a | 2.1 ± 0.3a | 3.3 ± 0.2b | 3.1 ± 0.3b | 4.1 ± 0.1c | 6.0 ± 0.1d | 6.4 ± 0.3d | 6.3 ± 0.2d |
| <i>Pseudomonas</i> | 2.3 ± 0.2a | 2.3 ± 0.1a | 2.0 ± 0.2a | 2.3 ± 0.5a | 2.3 ± 0.5a | 2.4 ± 0.1a | 2.1 ± 0.3a | 2.1 ± 0.2a | 2.2 ± 0.1a |
| Lactic acid bacteria | 2.0 ± 0.1a | 5.0 ± 0.3b | 5.0 ± 0.3b | 2.8 ± 0.4a | 6.2 ± 0.2c | 7.0 ± 0.5d | 5.3 ± 0.2b | 6.5 ± 0.2c | 7.2 ± 0.5d |
| Enterococci | < 10 ² a | < 10 ² a | < 10 ² a | 2.0 ± 0.1a | 2.0 ± 0.1a | 2.0 ± 0.1a | 2.6 ± 0.5a | 2.6 ± 0.5a | 2.3 ± 0.3a |
| Total coliforms | < 10a | < 10a | < 10a | 3.0 ± 0.2a | 2.5 ± 0.4a | 2.2 ± 0.5b | 5.0 ± 0.3c | 4.1 ± 0.3d | 3.1 ± 0.2b |
| <i>E.coli</i> | < 10a | < 10a | < 10a | 2.3 ± 0.3b | 2.1 ± 0.3b | 2.2 ± 0.1b | 2.5 ± 0.3b | 2.4 ± 0.3b | 2.3 ± 0.2b |
| Enterobacteriaceae | 2.1 ± 0.2a | 2.3 ± 0.1a | 2.2 ± 0.2a | 3.4 ± 0.4a | 2.9 ± 0.1a | 2.5 ± 0.3a | 4.9 ± 0.3b | 4.4 ± 0.1b | 3.3 ± 0.2a |
| Clostridi H ₂ S+ | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| pH | 6.08 | 6.08 | 6.08 | 6.09 | 6.07 | 6.03 | 6.11 | 6.08 | 6.04 |
| TVB-N | 12.7 ± 0.1a | 12.9 ± 0.1a | 12.9 ± 0.3a | 22.5 ± 1.5b | 21.5 ± 1.5b | 19.0 ± 1.2b | 42.2 ± 0.2c | 37.2 ± 1.2d | 30.2 ± 0.3e |
| TBARS | 1.7 ± 0.2a | 1.5 ± 0.1a | 1.7 ± 0.3a | 2.0 ± 0.3a | 2.0 ± 0.1a | 2.1 ± 0.2a | 2.2 ± 0.3a | 2.3 ± 0.1a | 2.2 ± 0.2a |

Legend: C: Control; without bioprotective starter; St: with bioprotective starter and StG: with bioprotective starter and glucose (0.1%) added. Data represent the means ± standard deviations of the total samples; Mean with the same letters within a lanes (following the values) are not significantly different ($p < 0.05$). Analyses were conducted in triplicate on three different samples per each sampling point. Data log CFU/g; < 10-10² CFU/g; TVB-N: mg N/100g; TBARS: nmol malonaldehyde/g.

Table 8: Development of microorganisms in VP packaged sea bream added with or without bioprotective cultures and glucose (0.1%) and stored at 6 ± 2 °C.

| Microorganisms | Time (days) | | | | | | | | |
|--------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | T0 | | | T7 | | | T14 | | |
| | C | St | StG | C | St | StG | C | St | StG |
| Total viable count | 2.3 ± 0.2a | 2.3 ± 0.1a | 2.3 ± 0.3a | 4.3 ± 0.2b | 4.1 ± 0.3b | 4.0 ± 0.1b | 6.9 ± 0.3c | 6.2 ± 0.5c | 6.1 ± 0.4c |
| <i>Pseudomonas</i> spp. | 2.3 ± 0.2a | 2.3 ± 0.1a | 2.0 ± 0.2a | 2.8 ± 1.2a | 2.3 ± 0.3a | 2.0 ± 0.2a | 2.3 ± 0.5a | 2.1 ± 0.2a | 2.1 ± 0.1a |
| Lactic acid bacteria | 2.0 ± 0.1a | 5.0 ± 0.3b | 5.0 ± 0.5b | 2.8 ± 0.6a | 5.9 ± 0.2b | 6.8 ± 0.3c | 5.3 ± 0.1d | 6.0 ± 0.1b | 6.9 ± 0.5c |
| Enterococci | < 10 ² a | < 10 ² a | < 10 ² a | 2.0 ± 0.2a | 2.0 ± 0.3a | 2.0 ± 0.1a | 2.5 ± 0.3b | 2.6 ± 0.3b | 2.0 ± 0.5ab |
| Total coliforms | < 10a | < 10a | < 10a | 2.2 ± 0.4b | 2.3 ± 0.3b | 2.1 ± 0.3b | 4.4 ± 0.3c | 4.0 ± 0.3c | 3.0 ± 0.2d |
| <i>E.coli</i> | < 10a | < 10a | < 10a | 2.3 ± 0.3b | 2.1 ± 0.3b | 2.2 ± 0.1b | 2.1 ± 0.3b | 2.1 ± 0.1b | 2.1 ± 0.2b |
| Enterobacteriaceae | 2.2 ± 0.3a | 2.2 ± 0.1a | 2.2 ± 0.1a | 2.5 ± 0.2a | 2.3 ± 0.6a | 2.2 ± 0.3a | 4.9 ± 0.3b | 4.3 ± 0.1c | 3.4 ± 0.2d |
| <i>Clostridium</i> H ₂ S+ | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| pH | 6.08 | 6.08 | 6.08 | 6.09 | 6.05 | 6.07 | 6.11 | 6.04 | 6.02 |
| TVB-N | 12.3 ± 0.2a | 12.2 ± 0.3a | 12.2 ± 0.1a | 22.9 ± 0.5b | 21.9 ± 0.8b | 19.0 ± 0.2c | 42.5 ± 1.2d | 38.2 ± 0.8e | 31.2 ± 0.2f |
| TBARS | 1.5 ± 0.2a | 1.5 ± 0.1a | 1.6 ± 0.2a | 2.0 ± 0.1b | 2.0 ± 0.2b | 2.1 ± 0.1b | 2.2 ± 0.1b | 2.1 ± 0.2b | 2.2 ± 0.1b |

Legend: C: Control: without bioprotective starter; St: with bioprotective starter and StG: with bioprotective starter and glucose (0.1%) added. Data represent the means ± standard deviations of the total samples; Mean with the same letters within a lanes (following the values). are not significantly different ($p < 0.05$). Analyses were conducted in triplicate on three different samples per each sampling point. Data log CFU/g; < 10-10³ CFU/g; TVB-N: mg N/100g; TBARS: nmol malonaldehyde/g.

Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract of Fish and the Potential Application of Prebiotics and Probiotics in Finfish Aquaculture

GARY BURR AND DELBERT GATLIN III¹

*Department of Wildlife and Fisheries Sciences, Texas A&M University System,
College Station, Texas 77843-2258 USA*

STEVEN RICKE

*Department of Poultry Science, Texas A&M University, Texas A&M University System,
College Station, Texas 77843 USA*



TABLE 2. *Potential prebiotics to be evaluated in finfish aquaculture.*

| Prebiotic | Targeted bacterial species | References | Bacteria detected in fish |
|------------------|-----------------------------|--|---------------------------|
| IMO ^a | <i>Lactobacillus</i> spp. | Chung and Day (2004) | Yes |
| IMO ^a | <i>Bifidobacterium</i> spp. | Chung and Day (2004) | No |
| FOS ^b | <i>Lactobacillus</i> spp. | Sghir et al. (1998), Kaplan and Hutkins (2000), Swanson et al. (2002b), Steer et al. (2003) | Yes |
| FOS ^b | <i>Bifidobacterium</i> spp. | Sghir et al. (1998), Kaplan and Hutkins (2000), Steer et al. (2003) | No |
| MOS ^c | <i>Lactobacillus</i> spp. | Swanson et al. (2002a) | Yes |
| GOS ^d | <i>Lactobacillus</i> spp. | Tzortzis et al. (2004), LeBlanc et al. (2005) | Yes |

^aIMO = isomaltooligosaccharide

^bFOS = fructooligosaccharide

^cMOS = mannanoligosaccharide

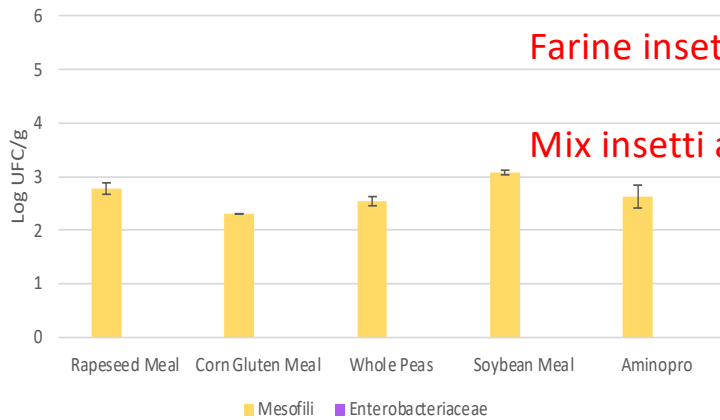


TABLE 1. Summary of finfish responses to dietary supplementation with various probiotics. Designations of (o), (+) and (-) indicate neutral, positive and negative responses, respectively, associated with the various measurements.

| Probiotic | Species | Dose and timing | Measured response | Reference |
|---|---------------------------|---|--|---|
| Live bacteriophage | Ayu | 10 ⁷ CFU/g diet once | Resistance to <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> + | Park et al. (2000) |
| <i>Aeromonas media</i> strain A199 | Eel | 10 ⁵ CFU/ml water added daily | Resistance to <i>Saprolegnia parasitica</i> + | Lategan et al. (2004) |
| <i>Bacillus subtilis</i> and <i>B. licheniformis</i> | Rainbow trout | 4 × 10 ⁴ spore/g diet for 42 d | Resistance to <i>Yersinia ruckeri</i> + | Raida et al. (2003) |
| <i>Bacillus subtilis</i> and <i>Lactobacillus delbrueckii</i> | Gilthead seabream | 0.5 × 10 ⁷ cfu/g to 1.0 × 10 ⁷ cfu/g to diet for 21 d | Cellular innate immune response + | Salinas et al. (2005) |
| <i>Carnobacterium divergens</i> | Atlantic cod | for 21 d, dose not given | Survival + Resistance to <i>Vibrio anguillarum</i> + | Gildberg et al. (1997) Gildberg and Mikkelsen (1998) |
| <i>Carnobacterium inhibens</i> | Rainbow trout | 10 ⁶ -10 ⁸ cell/g diet for 7-14 d | Resistance to <i>Aeromonas salmonicida</i> + Immune response + | Irianto and Austin (2002b) |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> | European sea bass | 7 × 10 ⁵ CFU/g diet | Amylase secretion +; Survival +; Growth - | Tovar et al. (2002) |
| <i>Enterococcus faecium</i> | European eel | 0.1% diet for 14 d | Resistance to <i>Edwardsiella tarda</i> + | Chang and Liu (2002) |
| <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Lactococcus ssp.</i> , <i>Lueconostoc ssp.</i> | Pathogens from Turbot | In vitro challenges to pathogenic Bacteria | Resistance to <i>Vibrio spp.</i> , <i>V. anguillarum</i> + | Vázquez et al. (2005) |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | Rainbow trout | 10 ⁹ cell/g diet for 51 d | Resistance to <i>Aeromonas salmonicida</i> + | Nikoskelainen et al. (2001) |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | Rainbow trout | 9 × 10 ⁴ , 2.1 × 10 ⁶ , 2.8 × 10 ⁸ , 9.7 × 10 ¹⁰ CFU/g diet | Immune responses + | Nikoskelainen et al. (2003) |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (heat-killed, live and freeze dried) | Rainbow trout | 10 ¹¹ CFU/g diet for 30 d | Immune response + for live and freeze dried Immune response o for heat killed | Panigrahi et al. (2005) |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> Strain AH2 | Salmon <i>Salmo salar</i> | 1 × 10 ⁵ to 1 × 10 ⁶ CFU/ml water | Resistance to <i>Aeromonas salmonicida</i> o | Gram et al. (2001) |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Nile tilapia | 0.1% diet for 63 d | Weight gain and feed efficiency + | Lara-Flores et al. (2002) |
| <i>Vibrio fluvialis</i> | Rainbow trout | 10 ⁶ -10 ⁸ cell/g diet for 7-14 d | Resistance to <i>Aeromonas salmonicida</i> + Immune response + | Irianto and Austin (2002b) |

Aquainnova

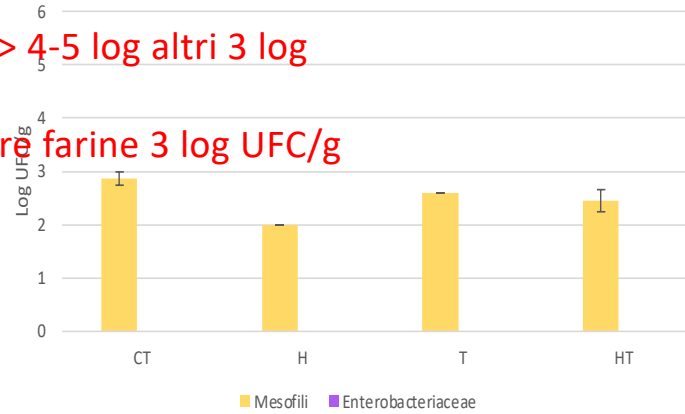
Ingredienti



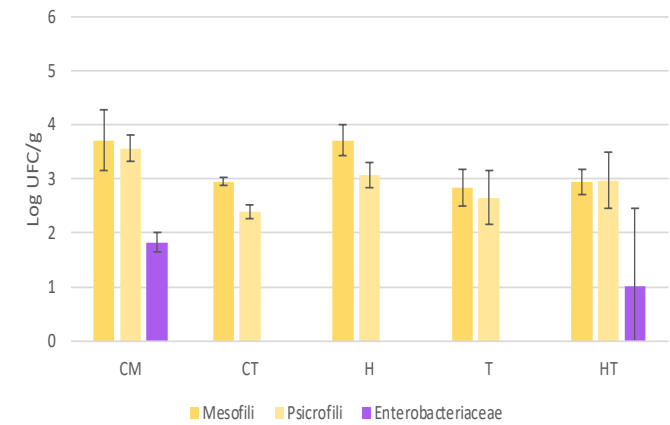
Farine insetti > 4-5 log altri 3 log

Mix insetti altri farine 3 log UFC/g

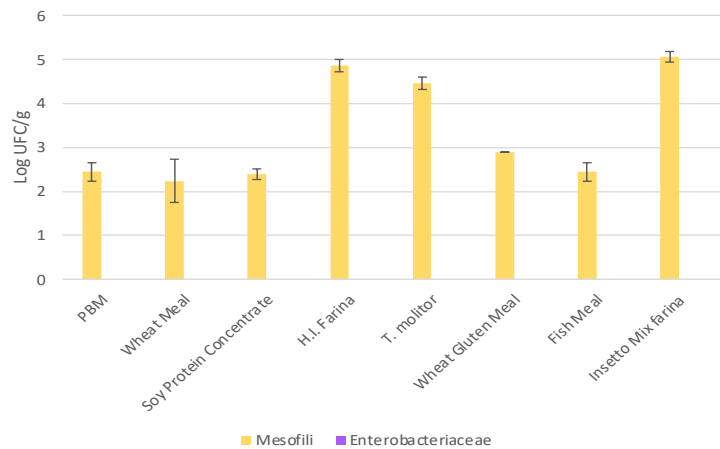
Mangimi Trote



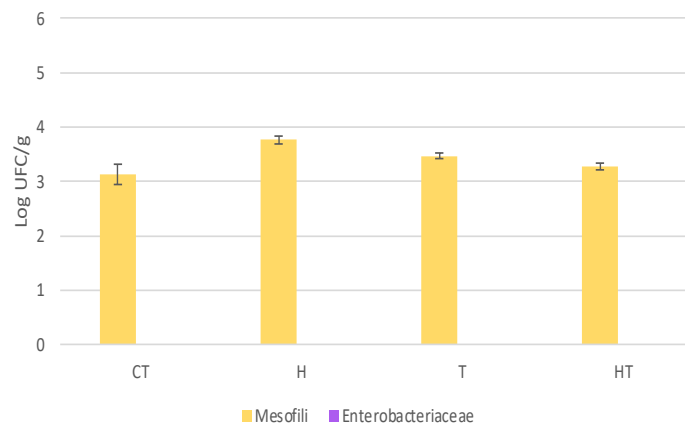
Trote



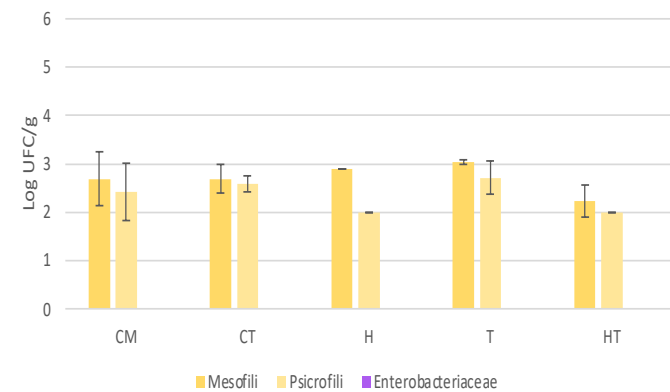
Farine



Mangimi Orate

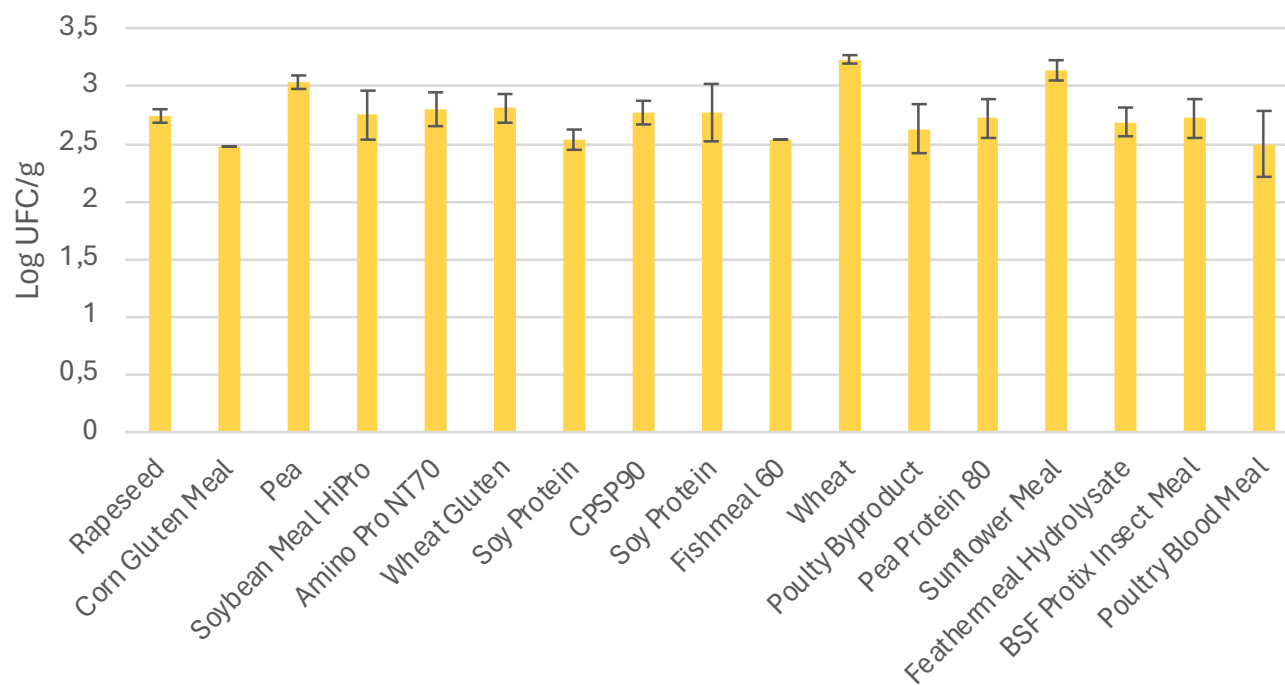


Orate



Conta microbica totale mesofila

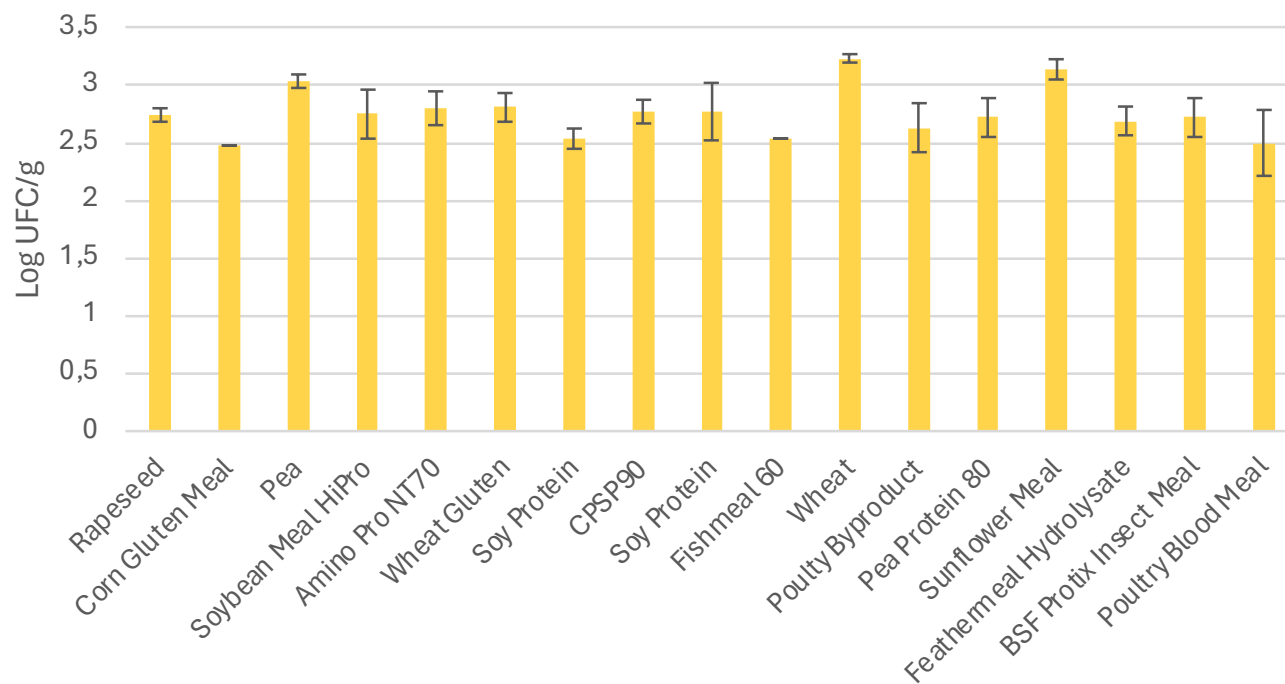
Contaminazione 3-3.5 log UFC/g



Salmonella spp → assente
Listeria monocytogenes → assente
E.coli e coliformi → < 10 ufc/g

Conta microbica totale mesofila

3-3.5 log UFC/g



Salmonella spp → assente
Listeria monocytogenes → assente
E.coli e coliformi → < 10 ufc/g

E ora...?



Futuro

- Impatto dei nuovi mangimi sulla qualità microbiologica dei pesci
- Impatto dei nuovi mangimi sul microbiota intestinale dei pesci



ACQUAINNOVA^{2.0}

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Maggiori informazioni sul nostro sito
www.acquainnova.org