

Impatto della PSA sul sistema produttivo della filiera suinicola e sull'industria della trasformazione

Progetto ASFree M.e.a.t. - African Swine Fever free M.e.a.t. (meet export agreement on trading)

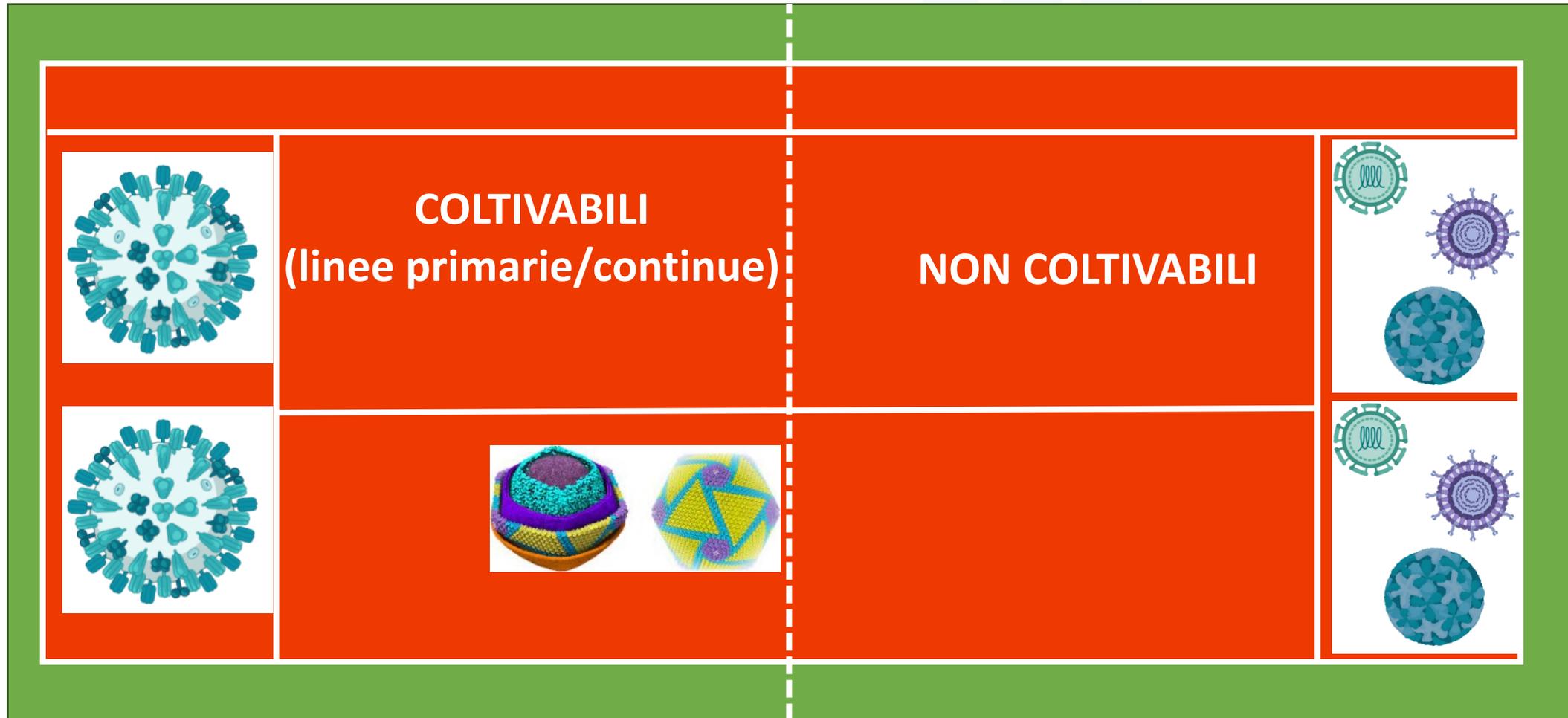
M. S. Beato*, G. Costantino*, A.Fulmini*, S.Pavone*, C. Montagnin*, G. Merialdi#, A.Cereser§, F. Furlan§, A. Brutti^, F. Feliziani*

*Laboratorio Nazionale di Referenza per le Pesti Suine (CEREP), Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati"

#IZS Lombardia e Emilia Romagna; §IZS delle Venezie; ^SSICA
Bologna, 30 Maggio, 2025

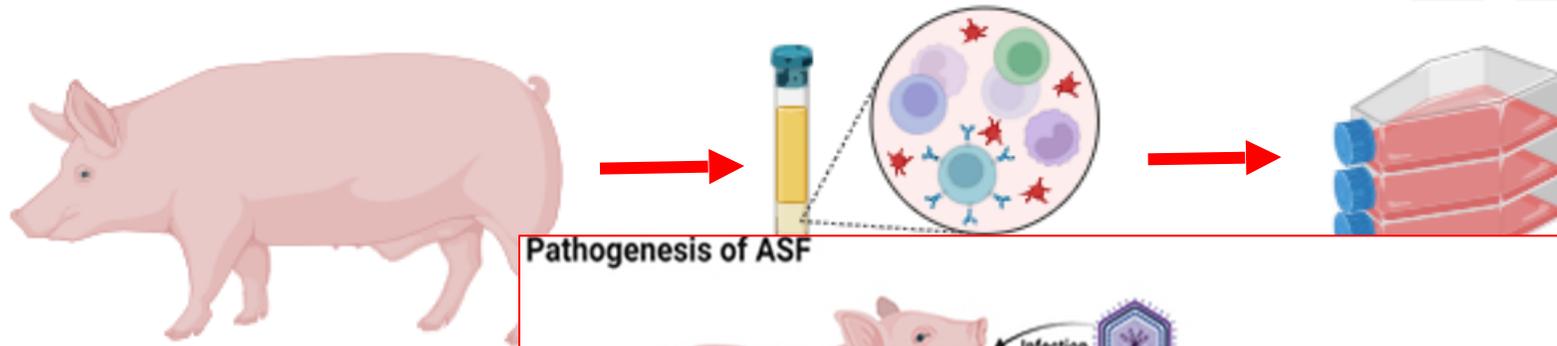


1. ISOLAMENTO VIRALE

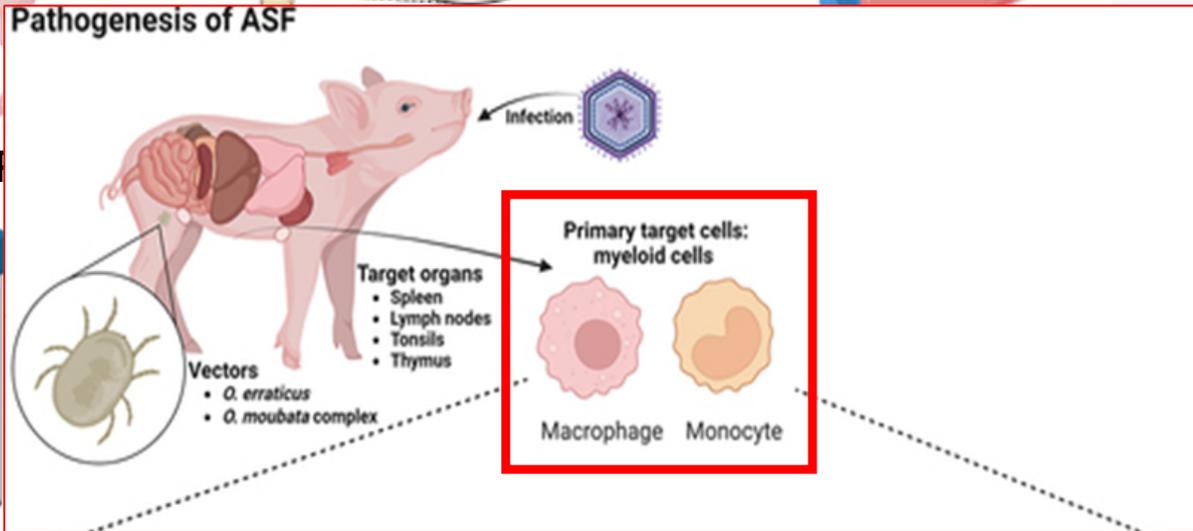


1. ISOLAMENTO DEL VIRUS DELLA PSA

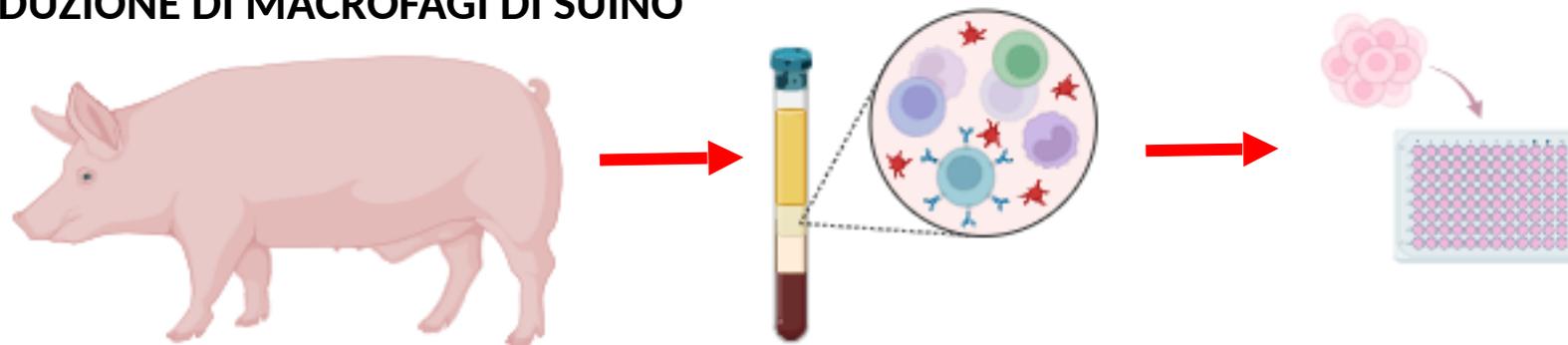
PRODUZIONE DI MACROFAGI DI SUINO: COLTURE PRIMARIE



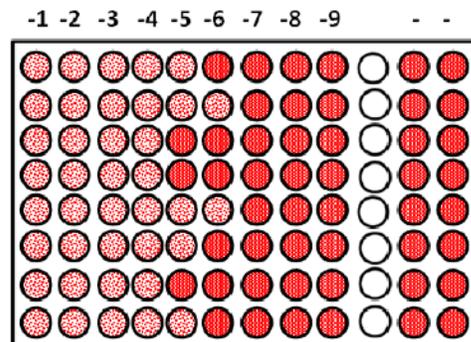
PRODUZIONE DI LOTTI VIVI



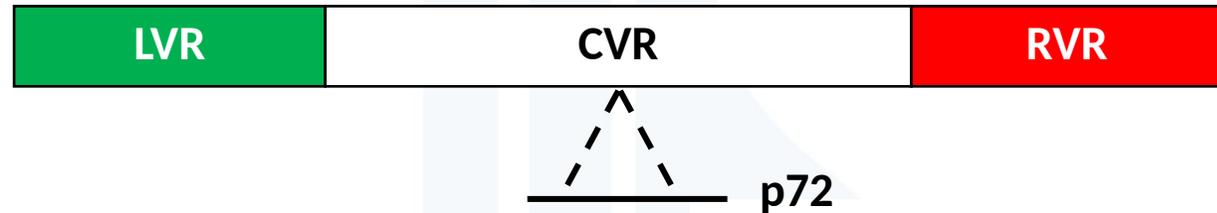
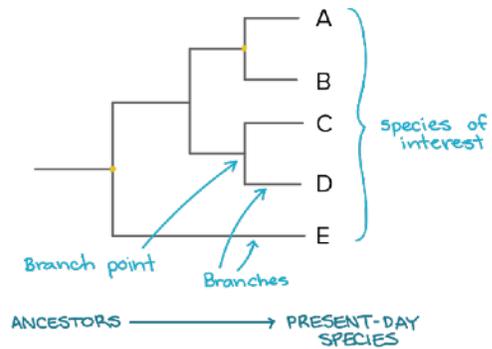
PRODUZIONE DI MACROFAGI DI SUINO



TITOLAZIONI VIRALI



2. GENOTIPI DEL VIRUS PSA



- **24 GENOTIPI**
- **GENOTIPO I E II UNICI IDENTIFICATI ANCHE FUORI DAL CONTINENTE AFRICANO**
- **IL GENOTIPO CIRCOLANTE ATTUALMENTE E' IL GENOTIPO II**
- **CAPOSTIPITE E' IL VIRUS GEORGIA/07**



3. I NOMI DEI VIRUS DELLA PSA



- Alcune famiglie virali hanno una nomenclatura riconosciuta internazionalmente: INFLUENZA

A/swine/Italy/22180/2004

A/chicken/Italy/2366/1997

- I virus della PSA non hanno una nomenclatura concordata internazionalmente:

BA71/V (Badajoz 1971 Vero-adapted) – genotipo I

Georgia/07 – genotipo II

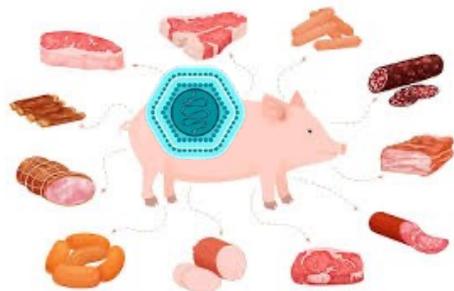
Armenia/07 – genotipo II



IL PROGETTO ASFree M.E.A.T.



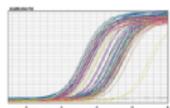
CONTAMINAZIONE ARTIFICIALE



INFEZIONE SPERIMENTALE DI SUINI E PRODUZIONE DI PRODOTTI DI SALUMERIA



STAGIONATURA BREVE – MEDIA – LUNGA



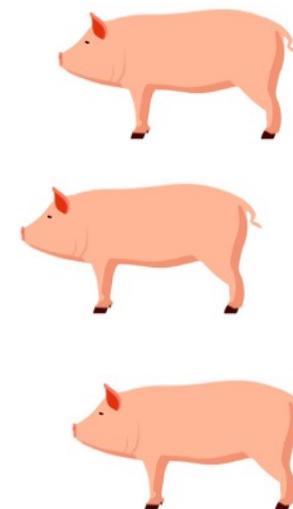
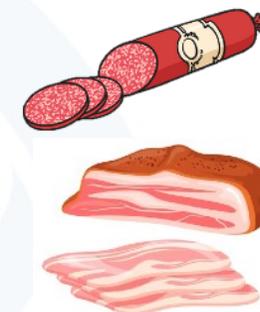
PCR



ISOLAMENTO



HPP



TEST VIROLOGICO
TEST SIEROLOGICO
SEGNI CLINICI

STUDIO DELLA **RESISTENZA** DEL

VIRUS ALLA STAGIONATURA



WP3. SELEZIONE DEI PRODOTTI DI SALUMERIA

-CONTAMINATI ARTIFICIALMENTE (WP3)

-PRODOTTI DA ANIMALI INFETTATI SPERIMENTALMENTE (WP4)

10 TIPOLOGIE DI PRODOTTI:
6 TIPOLOGIE DI SALAME

SALAME
NAPOLI



SALAME
FELINO



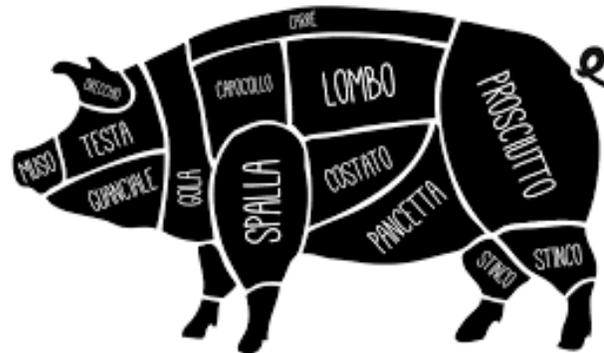
SALAME
MILANO



SALAME
CACCIATORE



COPPA



SALAME
SPIANATA



GUANCIALE



PANCETTA



PROSCIUTTO



WP3. FASI PREPARATIVE

1. Identificazione di un protocollo di contaminazione artificiale dei salami
2. Identificazione di salumifici territorialmente vicini ad ogni partner per supporto tecnico e operativo
3. Allestimento di salumifici sperimentali in strutture BSL3 presso ogni partner
4. Allestimento laboratori di microbiologia alimentare in BSL3
5. Produzione di lotti virali in quantità sufficienti per 3 lotti di ogni tipologia di salame (1% volume/peso)
6. Produzione salami «in bianco»

1 salame Milano di taglio ridotto= 2,5 kg

1 lotto= 20 salami

3 lotti= 60 salami

1 salame Milano di taglio ridotto= 25 ml di virus

1 lotto= 500 ml di virus

3 lotti= 1,5 litri di virus



1. Identificazione di un protocollo di contaminazione artificiale dei salami

Obiettivo	Unità di salame da produrre e stagionare	Numero minimo di Salami **
1 Inattivazione virus PSA durante la stagionatura	Salami contaminati con virus PSA da esaminare durante la stagionatura	12 (3 salami per giorno di prelievo)
2 Inattivazione virus PSA per effetto di HPP	Salami contaminati con PSA da trattare con HPP	5
-	Salami di scorta contaminati con PSA*	3
	Totale	20

*consigliato per possibili incidenti

** Il doppio per cacciatore



Processo produttivo salame Milano

12) CELLA IMPASTI	L'impasto normalmente viene fatto riposare nelle celle n° 11 e 12 impostate da -3°C a +4°C circa 2 ore prima di insaccarli.
--------------------------	---

13) PREPARAZIONE BUDELLI	I budelli naturali arrivano in fusti sotto sale chiusi ermeticamente, vengono lavati per eliminare il sale e tenuti a bagno con acqua e aceto fino al momento dell'utilizzo; a fine giornata possono rimanere in cella massimo a 2°C e non oltre 24 ore. I budelli sintetici arrivano chiusi in sacchi di nylon e imballate, vengono lavati e tenuti semplicemente a bagno con acqua calda per ammorbidirli.
---------------------------------	--

15) RIPOSO STATICO	Lo sgocciolamento consente al prodotto di amalgamarsi e asciugarsi in superficie, avviene per 12/24 ore a T° da +1°/+3°C e UR 60/80% serve ad uniformare la temperatura di tutto il prodotto che verrà poi spostato contemporaneamente nelle celle successive.
---------------------------	--

17) ASCIUGATURA	Le celle di asciugatura sono programmabili a seconda anche della tipologia dei prodotti. Nelle celle di asciugatura continua lo sgocciolamento del prodotto per circa 12 ore con innalzamento graduale della temperatura fino a T° 24°C con il 90% di umidità. Iniziano successivamente 7 fasi di lavorazione: la 1ª fase lavora a T° 24°/26°C e UR 50-55% per circa 14 ore. La 2ª fase lavora a T° 21°C e UR 65-75% per 14 ore. La 3ª fase lavora a T° 19°C e UR 70-80% per 14 ore. La 4ª fase lavora a T° 18°C e UR 70-80% per 12 ore. La 5ª fase lavora a T° 16°C e UR 75-80% per 12 ore. La 6ª fase lavora a T° 15°C e UR 70-80% per 24 ore. La 7ª fase lavora a T° 14°C e UR 75-85% per 24 ore, dove i salami rimangono per il tempo relativo al giusto calo peso 15/20% con ph 4,9/5,1 per i salami di calibro inferiore e 12/16% con ph 4,8/5,1 per quelli di calibro superiore a 100. Per i salami l'asciugatura varia a seconda della pezzatura del prodotto. Salami con diametro superiore a 100 cm posti a temperatura 23/25 con 60/70% UR dura circa 6 giorni. Salami con diametro da 60 a 100 cm dura 5/6 giorni un po' meno se insaccati in budello sintetico un po' più se in budello naturale.
------------------------	--

18) STAGIONATURA	Le celle di stagionatura posizionate da 14° a 15°C e una UR di 75-80% per un tempo variabile a seconda sempre del calibro e delle caratteristiche del salume. Un calibro piccolo/medio è pronto da 30/60 giorni totali di produzione mentre calibri maggiori possono richiedere periodi anche di 90/120 giorni. Per salame Milano e Pressata 45-55 giorni dalla fine dell'asciugatura.
-------------------------	--

Refrigerazione impasto per circa 2 ore



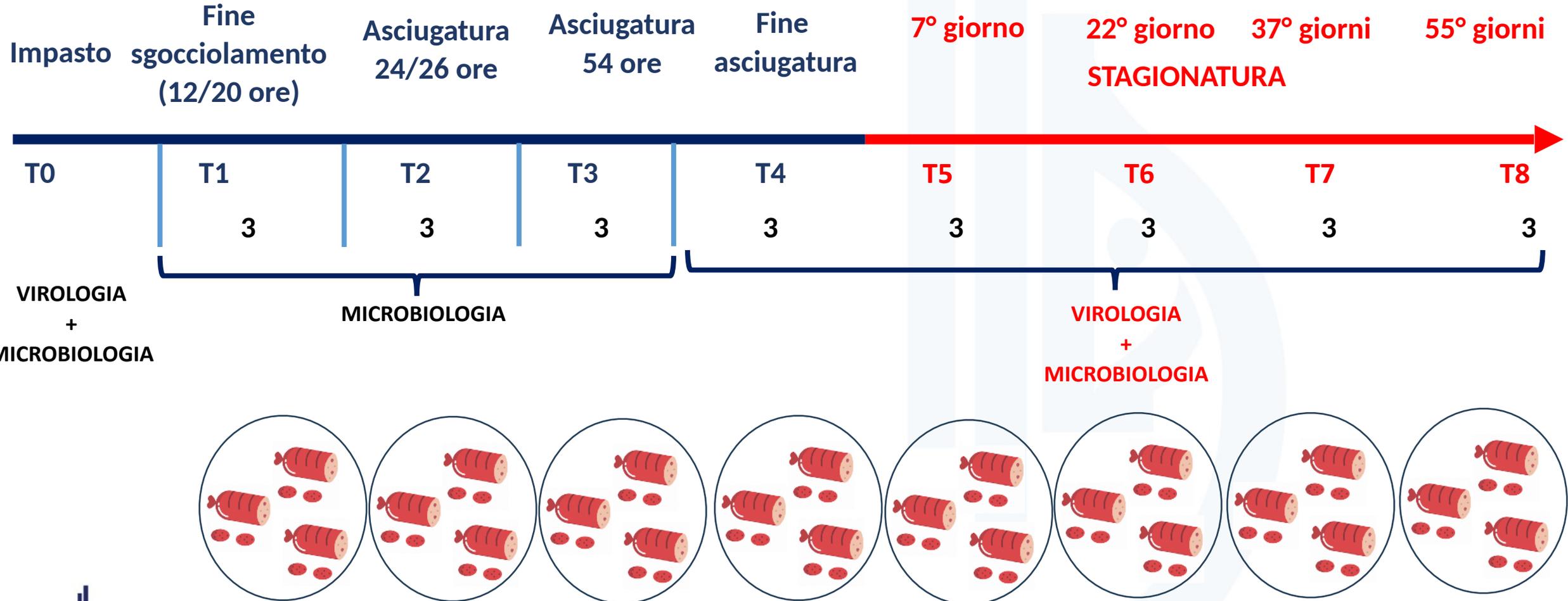
Rinvenimento budelli e insacco



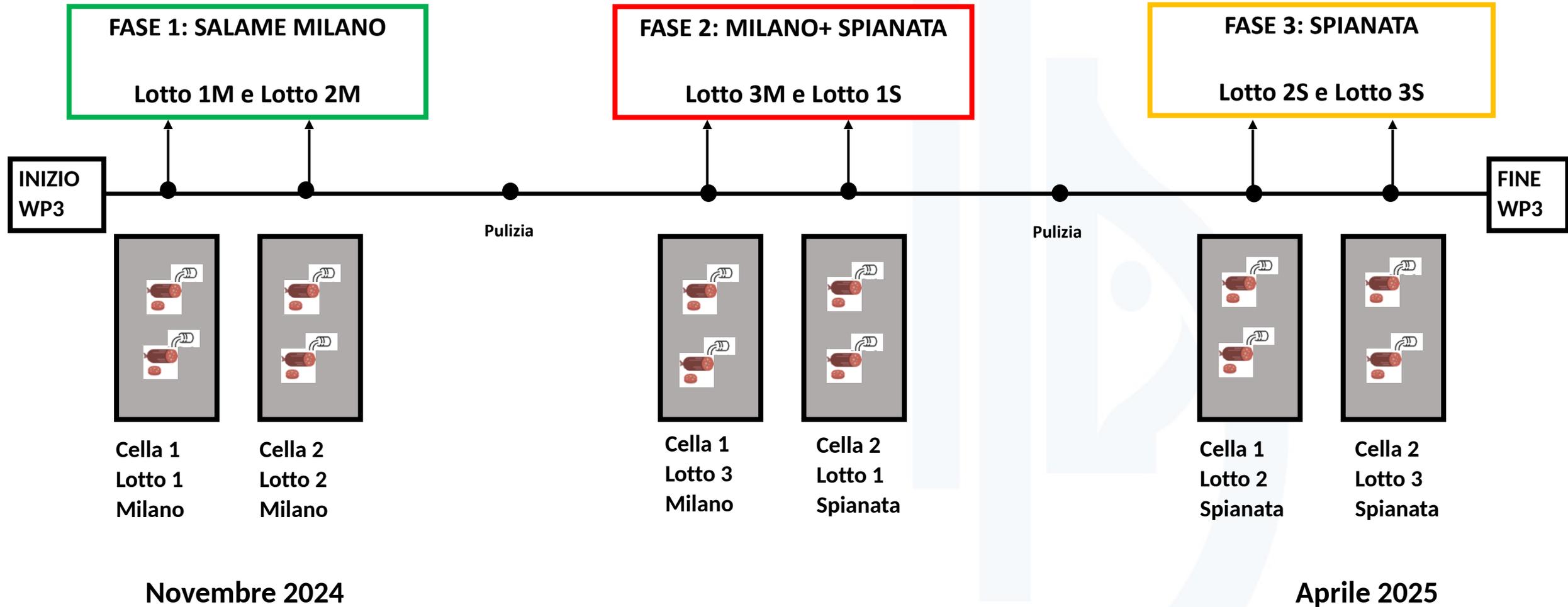
FASE	DURATA	TEMPERATURA	UMIDITA'
Sgocciolamento	da 12 a 24 ore	2,0°C	70,0%
inizio asciugatura	3 ore	12,0°C	90,0%
	9 ore	24,0°C	90,0%
I Fase	14 ore	25,0°C	52,5%
II Fase	14 ore	21,0°C	70,0%
III Fase	14 ore	19,0°C	75,0%
IV Fase	12 ore	18,0°C	75,0%
V Fase	12 ore	16,0°C	77,5%
VI Fase	24 ore	15,0°C	75,0%
VII Fase	24 ore	14,0°C	80,0%
Stagionatura	7 giorni	14,5°C	77,5%
	22 giorni	14,5°C	77,5%
	37 giorni	14,5°C	77,5%
	55 giorni	14,5°C	77,5%



WP3.PROTOCOLLO DI CONTAMINAZIONE ARTIFICIALE



Time Line WP 3



WP3. Preparazione salami «in bianco»



WP3. Preparazione salami



WP2. Produzione di 4 litri di Virus BA71V

(genotipo I adattato a cellule Vero – ATCC number CCL-81)

10 ml virus x kg di impasto

3 lotti salame Milano & 3 lotti spianata 20 salami x lotto

2,5 kg di peso per ogni salame

TASK 2.1

- *Identificazione dei prodotti a breve stagionatura e studio dei protocolli sperimentali di contaminazione artificiale*

TASK 2.2

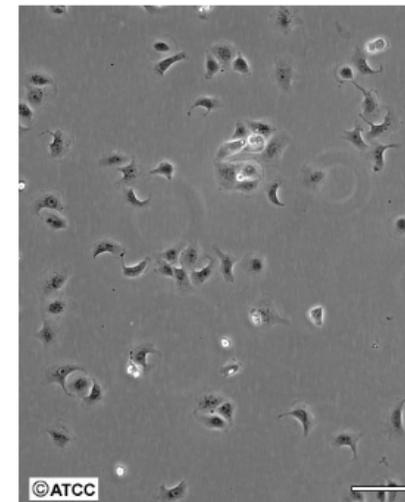
- *Sviluppo di protocolli per l'isolamento e coltura del virus della PSA al fine di ottenere titoli virali idonei per procedere alla contaminazione artificiale dei prodotti stagionati*

TASK 2.3

- *Sviluppo e validazione di metodi di biologia molecolare quali/quantitativi (Real Time PCR, ddPCR, PCR in situ ecc.) per la rilevazione del virus della PSA in prodotti stagionati*

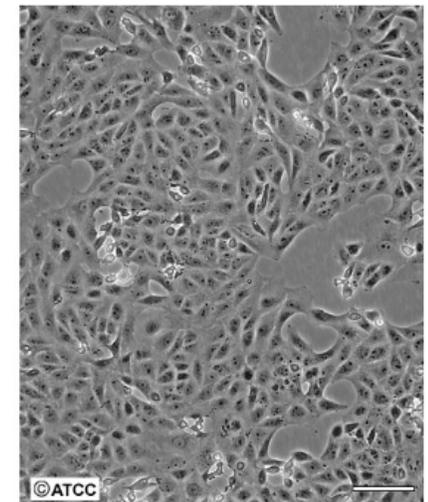


ATCC Number: **CCL-81**
Designation: **Vero**



© ATCC
Low Density

Scale Bar = 100µm



© ATCC
High Density

Scale Bar = 100µm

FASE 1b

Sviluppo di tecniche basate su sistemi cellulari che siano in grado di valutare quantitativamente il titolo di contaminazione di prodotti contaminati da virus PSA

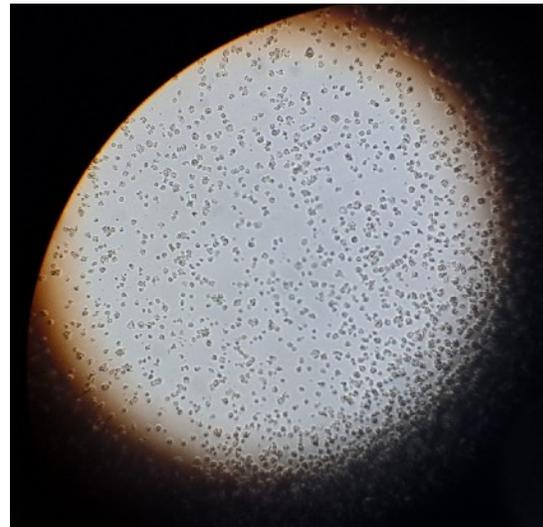
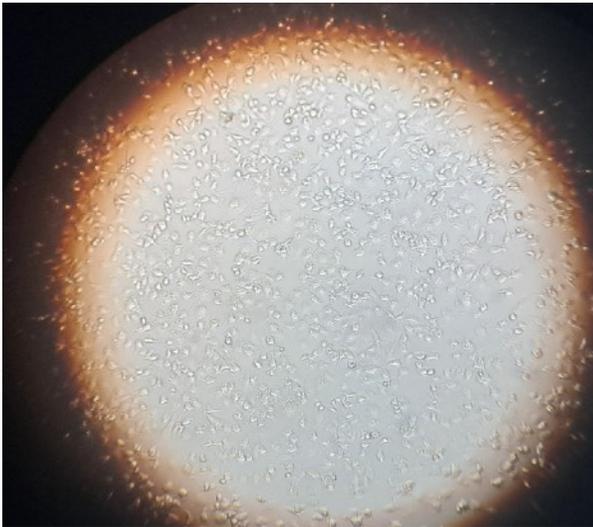
scientific reports

OPEN An immortalized porcine macrophage cell line competent for the isolation of African swine fever virus

Kentaro Masujin¹, Tomoya Kitamura¹, Ken -ichiro Kameyama¹, Kota Okadera¹, Tatsuya Nishi², Takato Takenouchi³, Hiroshi Kitani³ & Takehiro Kokuho¹

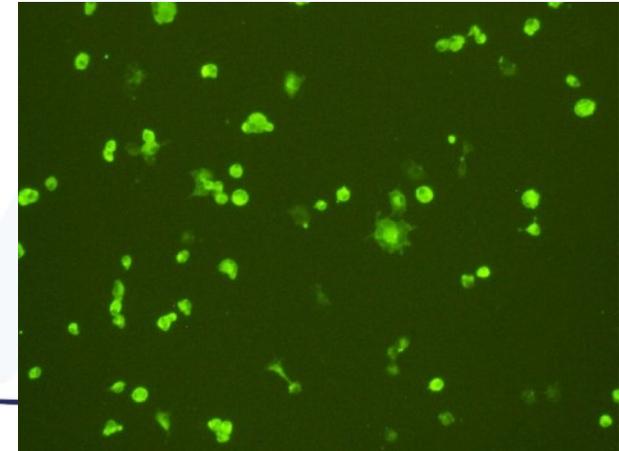
Check for updates

CONTROLLO NEGATIVO

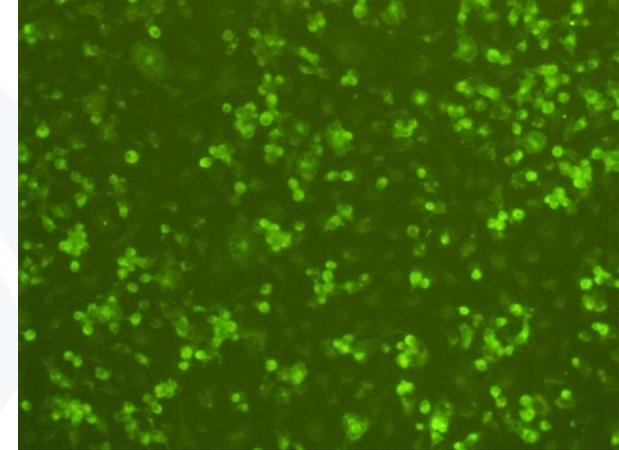


ARMENIA 07

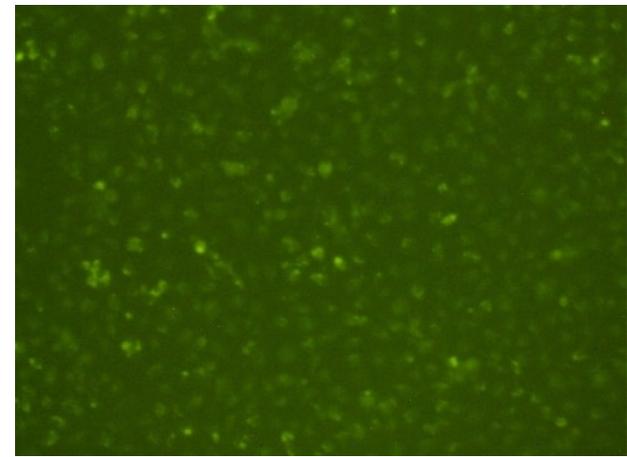
MILZA POSITIVA
D.34509/1

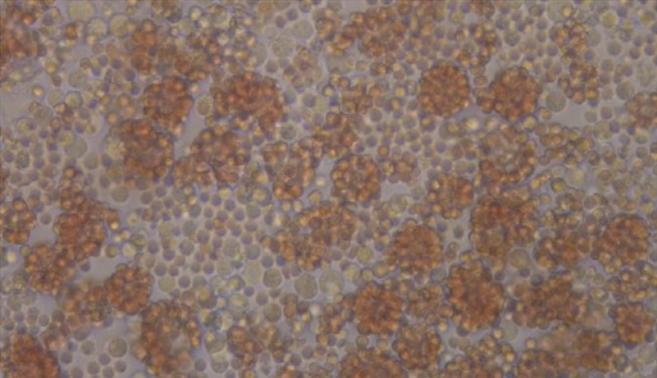


MILZA POSITIVA
D. 33964/2



CONTROLLO NEGATIVO





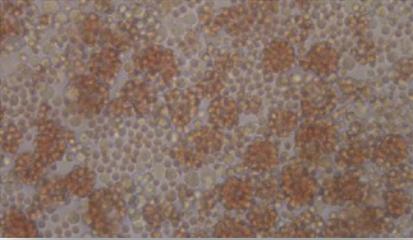
Prove di Isolamento Virale

IPKM

PBMC

	I° PASSAGGIO	II° PASSAGGIO	I° PASSAGGIO	II° PASSAGGIO
D. 34097/1	POSITIVO		POSITIVO	
D. 34097/2	POSITIVO		POSITIVO	
D. 34086	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
D. 33964/2	POSITIVO		NEGATIVO	POSITIVO
D.34509/1	POSITIVO		POSITIVO	





Prove di Isolamento Virale

IPKM

PBMC

	I° PASSAGGIO	I° PASSAGGIO	II° PASSAGGIO
S4	POSITIVO	POSITIVO	
S5	POSITIVO	POSITIVO	
S6	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
S8	POSITIVO	POSITIVO	
S9	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
S12	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
T14	POSITIVO	POSITIVO	



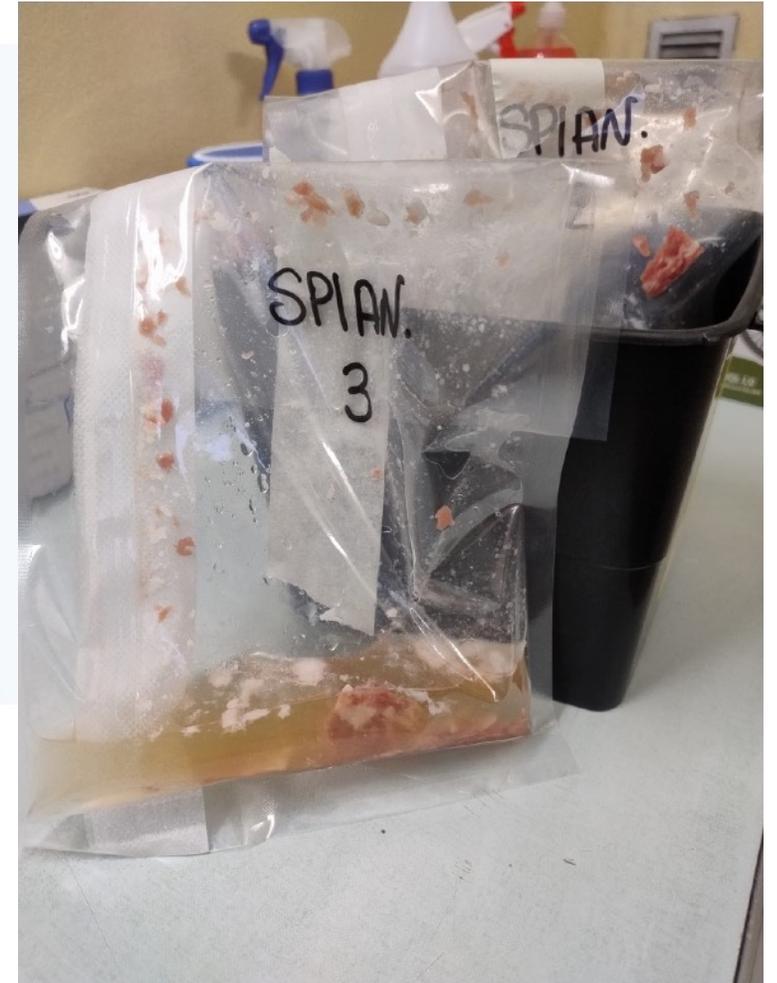
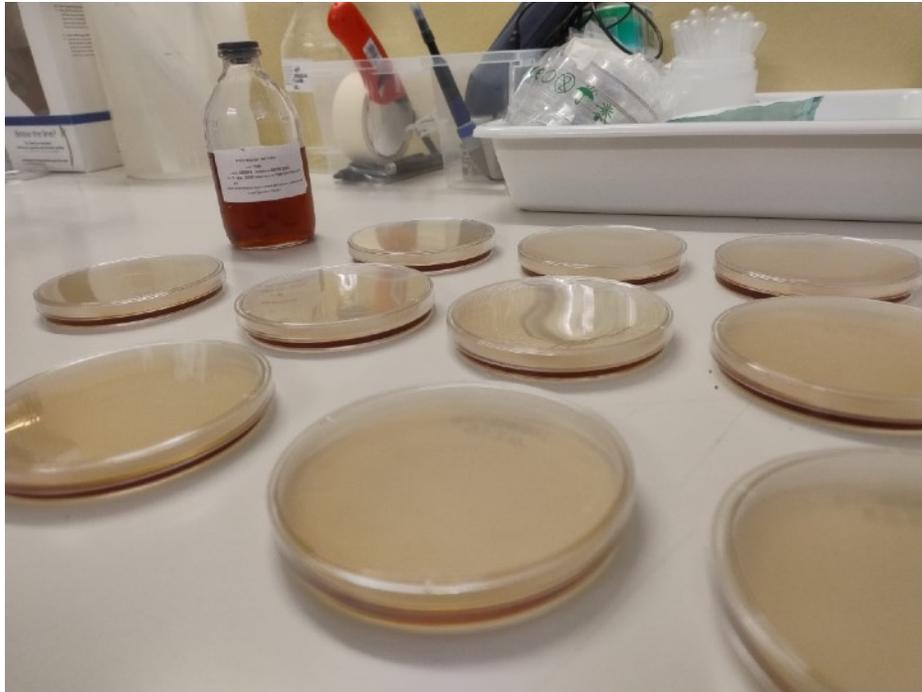
WP3. CONTAMINAZIONE CON VIRUS PSA E PRODUZIONE



WP3. CONTAMINAZIONE CON VIRUS PSA E PRODUZIONE



WP3. PARAMETRI TECNOLOGICI E DI PROCESSO



WP3. PARAMETRI PRODUTTIVI

PARAMETRI PRODUTTIVI	SALAME MILANO		SALAME SPIANATA	
	LOTTO 1	LOTTO 2	LOTTO 2	LOTTO 3
Aw a termine stagionatura (T8)	0,917	0,910	0,904	0,906
Calo peso a fine stagionatura	30,31%	29,29%	33,27%	32,76%
pH minimo raggiunto	4,89	4,89	5,12	5,14
pH a fine stagionatura	5,02	5,09	5,65	5,43



WP3. PARAMETRI PRODUTTIVI

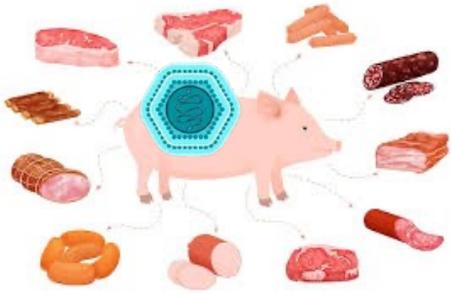
PARAMETRI PRODUTTIVI	SALAME CACCIATORE		
	LOTTO 1	LOTTO 2	LOTTO 3
Aw a termine stagionatura	0,90	0,89	0,94
Calo peso a fine stagionatura	33,50%	35,16%	23,03%
pH minimo raggiunto	5,4	5,4	5,3
pH a fine stagionatura	5,4	5,6	5,3



IL PROGETTO ASFree M.E.A.T.



CONTAMINAZIONE ARTIFICIALE



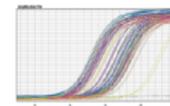
INFEZIONE SPERIMENTALE DI SUINI E PRODUZIONE DI PRODOTTI DI SALUMERIA



STAGIONATURA BREVE – MEDIA – LUNGA



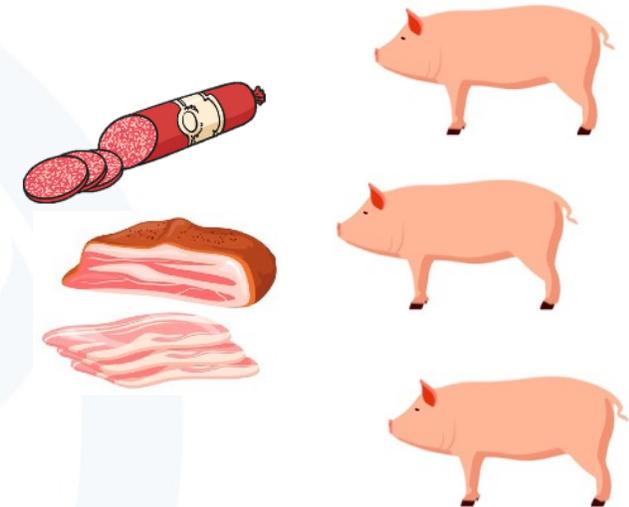
HPP



PCR



ISOLAMENTO

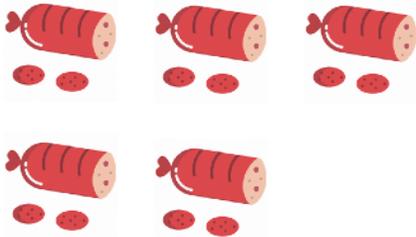


VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEL TRATTAMENTO HPP

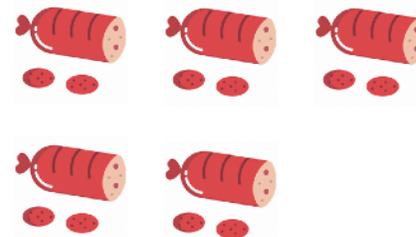
WP3. DATI VIROLOGICI

Fine stagionatura

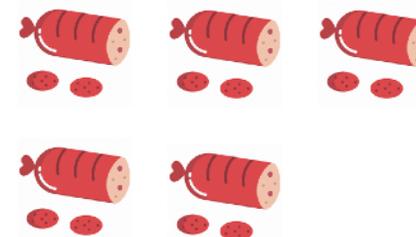
LOTTO 1



LOTTO 2

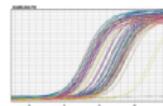


LOTTO 3



5 salami o metà

Trattamento HPP



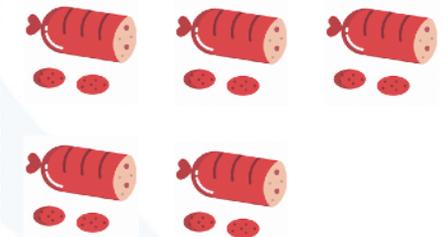
PCR



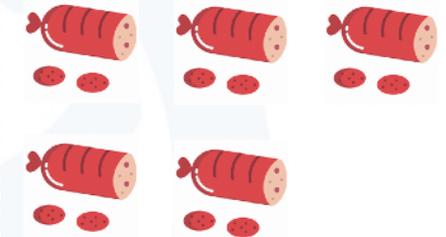
ISOLAMENTO

Post HPP

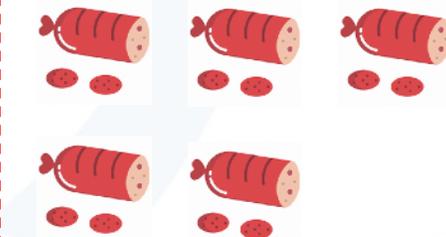
LOTTO 1



LOTTO 2



LOTTO 3



WP3. SALAME MILANO: DATI VIROLOGICI

Fine stagionatura

LOTTO 1



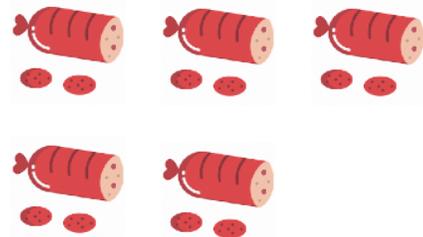
Assenza virus vivo e vitale

LOTTO 2



Assenza virus vivo e vitale

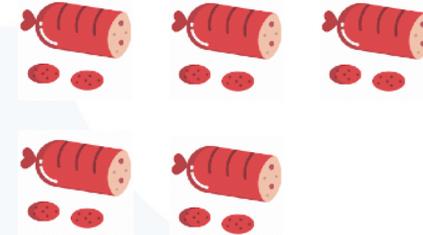
LOTTO 3



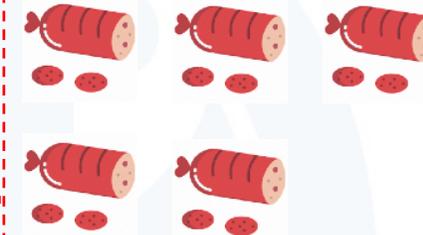
Assenza virus vivo e vitale

Post HPP

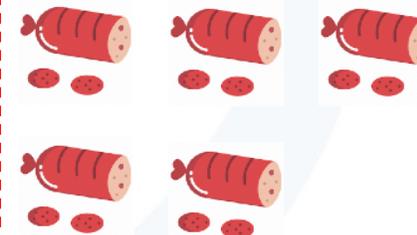
LOTTO 1



LOTTO 2

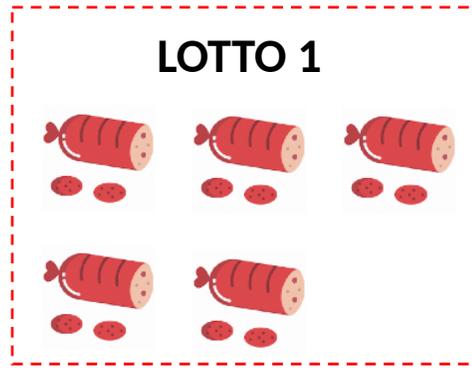


LOTTO 3



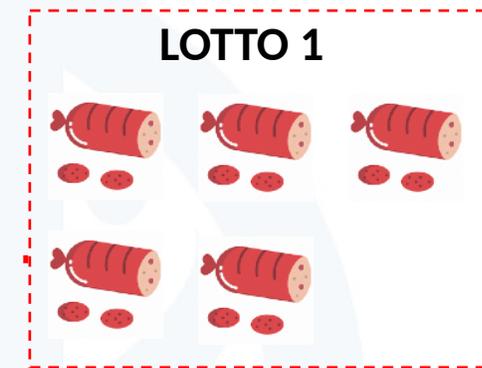
WP3. SALAME SPIANATA: DATI VIROLOGICI

Fine stagionatura



Assenza virus vivo e vitale

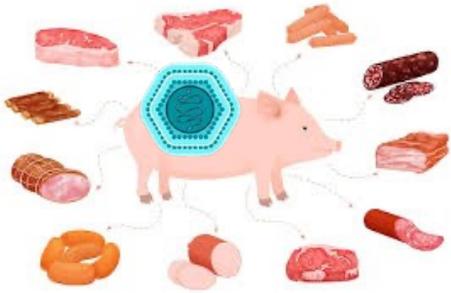
Post HPP



IL PROGETTO ASF_{Free} M.E.A.T.



CONTAMINAZIONE ARTIFICIALE



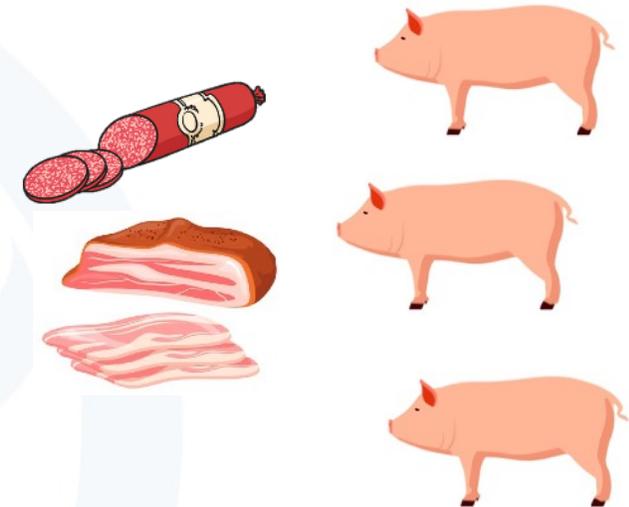
INFEZIONE SPERIMENTALE DI SUINI E PRODUZIONE DI PRODOTTI DI SALUMERIA



STAGIONATURA BREVE – MEDIA – LUNGA



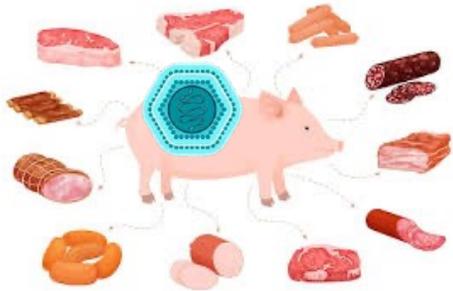
VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEL TRATTAMENTO HPP



IL PROGETTO ASFree M.E.A.T.



CONTAMINAZIONE ARTIFICIALE



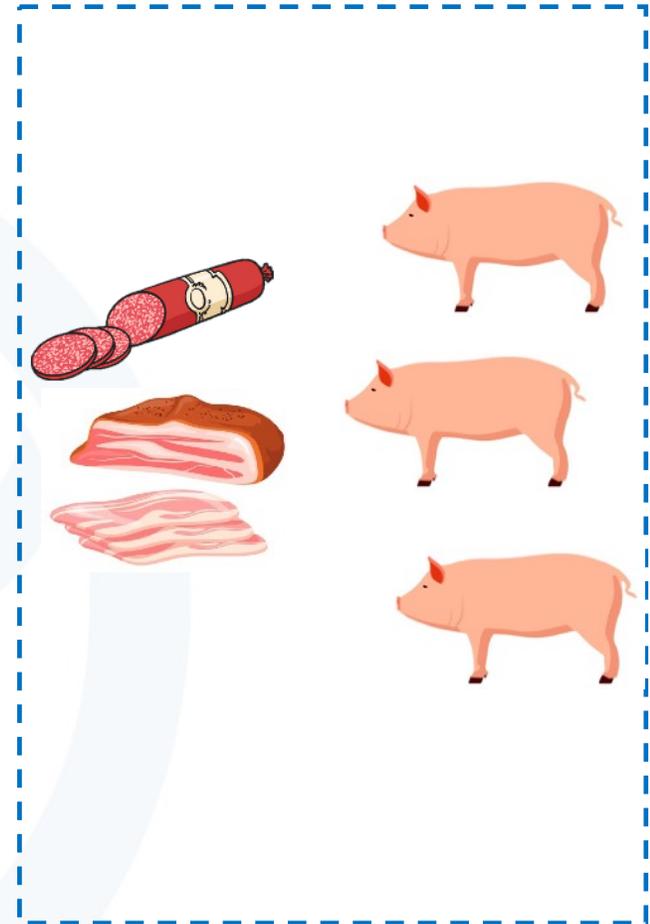
INFEZIONE SPERIMENTALE DI SUINI E PRODUZIONE DI PRODOTTI DI SALUMERIA



STAGIONATURA BREVE – MEDIA – LUNGA



HPP



VALUTAZIONE *IN VIVO* DELL'EFFICACIA

DEL TRATTAMENTO HPP

www.izsum.it

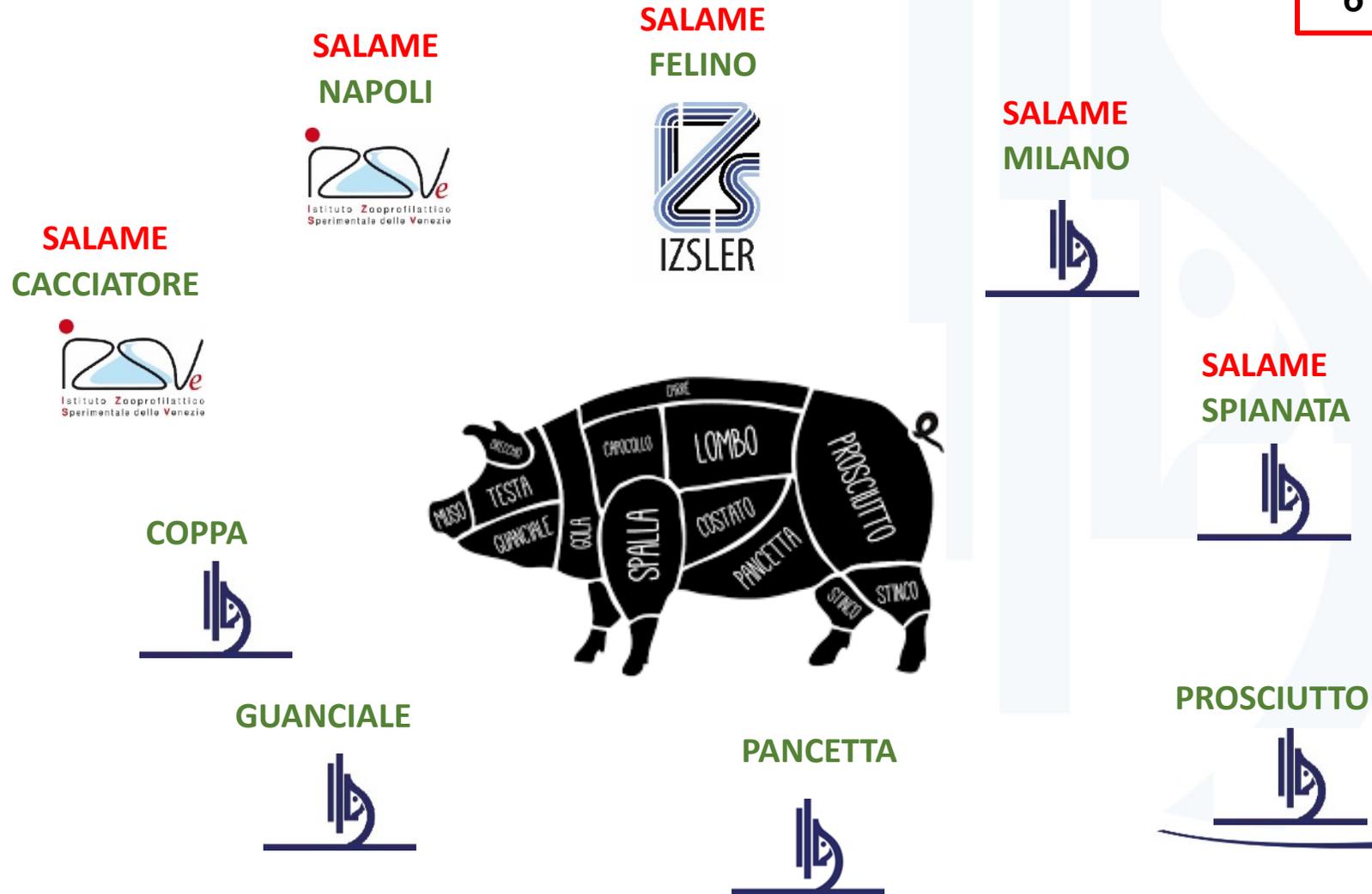


WP3. SELEZIONE DEI PRODOTTI DI SALUMERIA

-CONTAMINATI ARTIFICIALMENTE (WP3)

-PRODOTTI DA ANIMALI INFETTATI SPERIMENTALMENTE (WP4)

10 TIPOLOGIE DI PRODOTTI:
6 TIPOLOGIE DI SALAME



PROVE IN VIVO – WP3 + WP4

Fase	Tipo prova in vivo	Numero di tipologie di prodotti di salumeria
WP3	prova di alimentazione 1	6 tipi di salame
WP4	Prova di infezione	10 (6 tipi di salame, prosciutto, coppa, guanciale, pancetta)
WP4	prova di alimentazione 2	10 (6 tipi di salame, prosciutto, coppa, guanciale, pancetta)

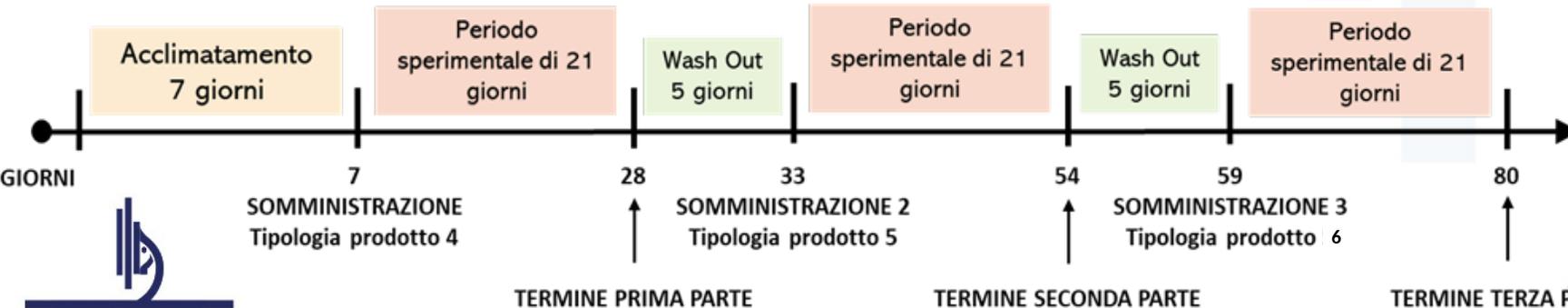
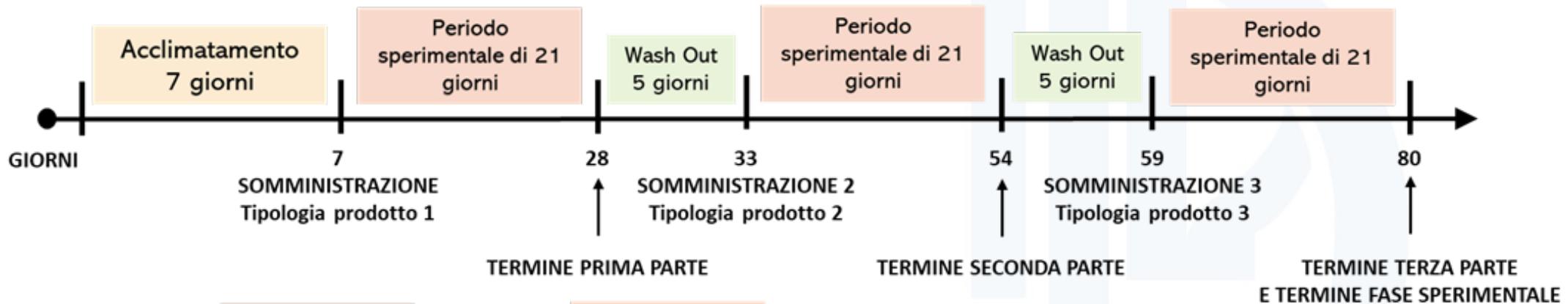
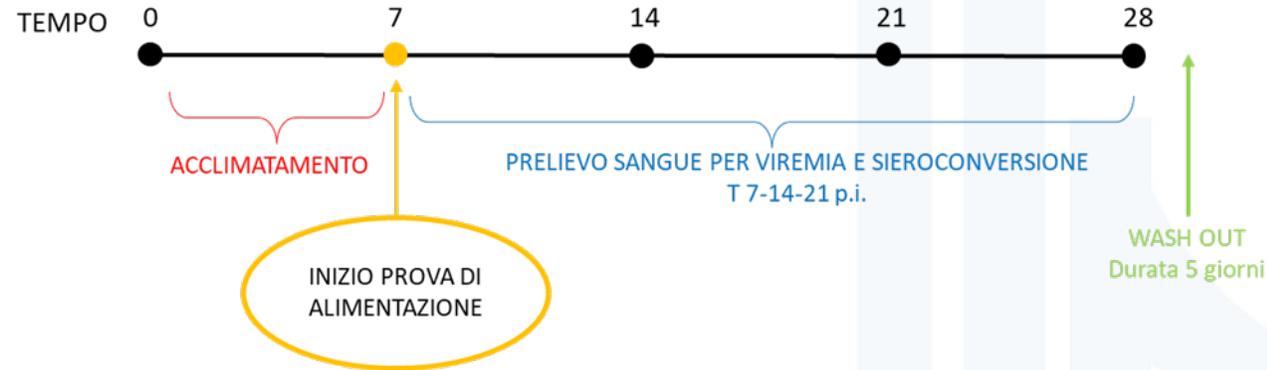


PROVE IN VIVO – WP3 + WP4

Numero tipologie di prodotti di salumeria	Tipologia di prodotto di salumeria		N. lotti prodotti/prodotti	Utilizzo
1	Fermentati	Salame Milano	3/60	Prove di alimentazione
2		Salame spianata	3/60	Prove di alimentazione
3		Salame felino tipo 1	3/60	Prove di alimentazione
4		Salame felino tipo 2	3/60	Prove di alimentazione
5		Salame Napoli	3/60	Prove di alimentazione
6		Cacciatore	3/60	Prove di alimentazione

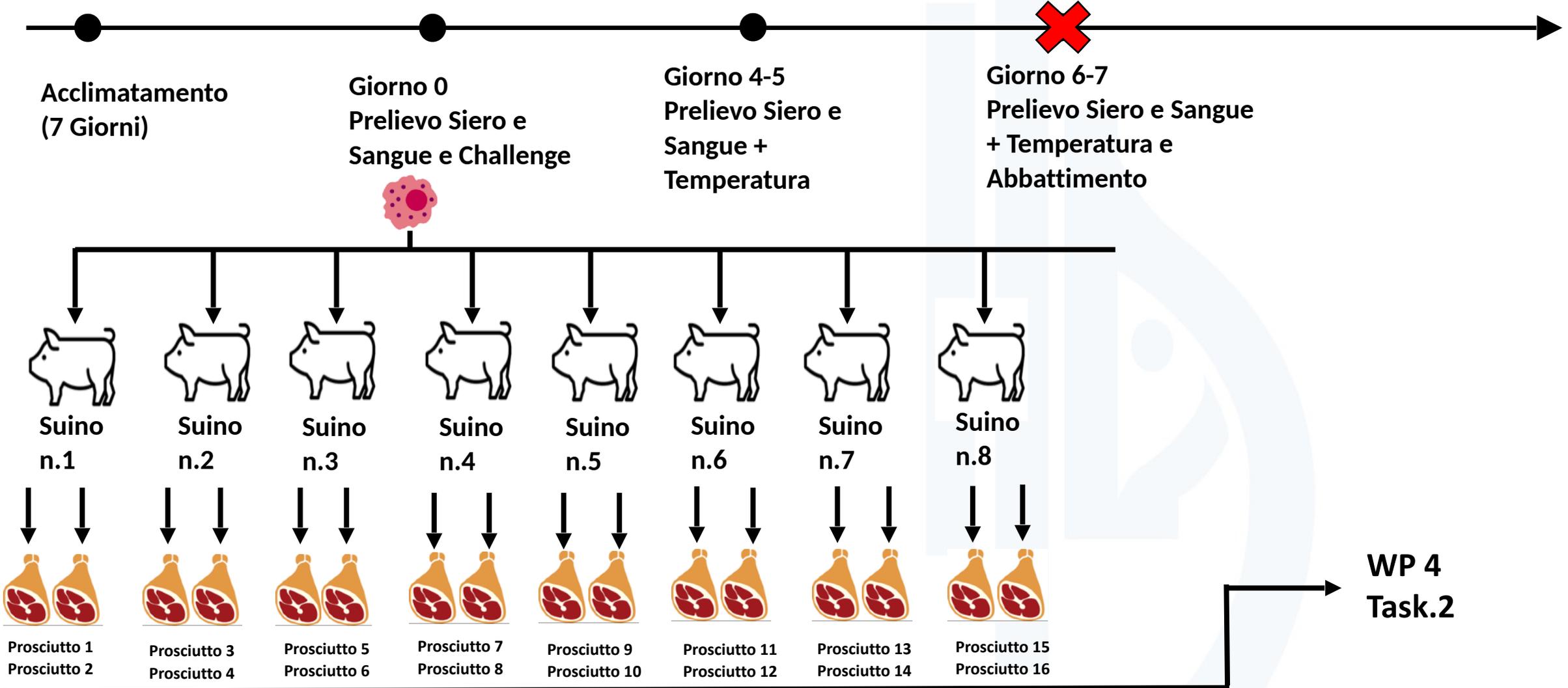
Numero tipologie di prodotti di salumeria	Tipologia di prodotto di salumeria		N. lotti prodotti/prodotti	Utilizzo
1	Fermentati	Salame Milano	3/60	Prove di alimentazione
2		Salame spianata	3/60	Prove di alimentazione
3		Salame felino tipo 1	3/60	Prove di alimentazione
4		Salame felino tipo 2	3/60	Prove di alimentazione
5		Salame Napoli	3/60	Prove di alimentazione
6		Cacciatore	3/60	Prove di alimentazione
7	Non fermentati	Coppa	4/16	Prove di alimentazione
8		Pancetta	4/16	Prove di alimentazione
9		Guanciale	4/16	Prove di alimentazione
10		Prosciutti	4/16	Prove di alimentazione

PROVE DI ALIMENTAZIONE: DISEGNI SPERIMENTALI



Durata: 6 mesi per 6 prove di alimentazione/6 prodotti

WP4: PROVE DI INFEZIONE SPERIMENTALE

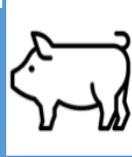
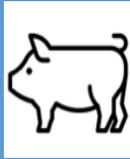


ROOM 1

ROOM 2

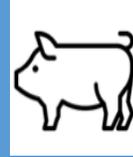
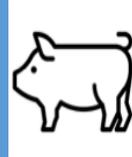
ROOM 3

GRUPPO 1



4 PROSCIUTTI =
1 LOTTO

GRUPPO 2



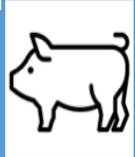
4 PROSCIUTTI =
1 LOTTO

GRUPPO 3



4 PROSCIUTTI =
1 LOTTO

GRUPPO 4



4 PROSCIUTTI =
1 LOTTO

BOX 1

BOX 2

BOX 1

BOX 2

BOX 1

BOX 2

7 giorni +7 di pulizia=14 giorni

7 giorni +7 di pulizia=14 giorni

7 giorni +7 di pulizia=14 giorni

1 mese ½ / 2mesi

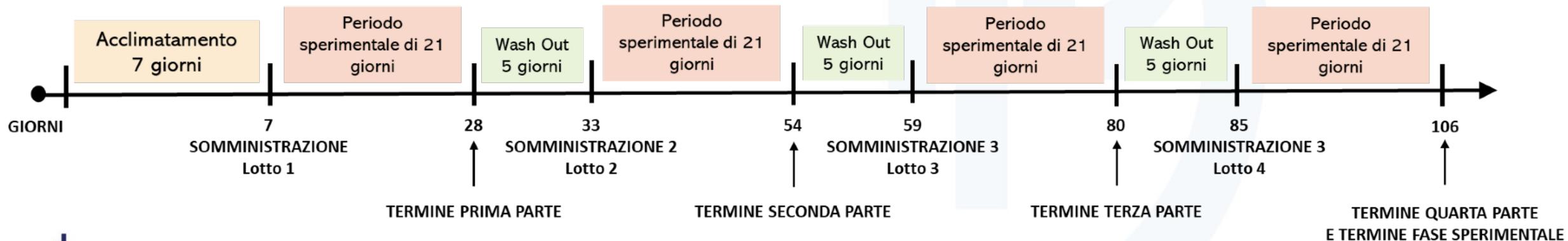
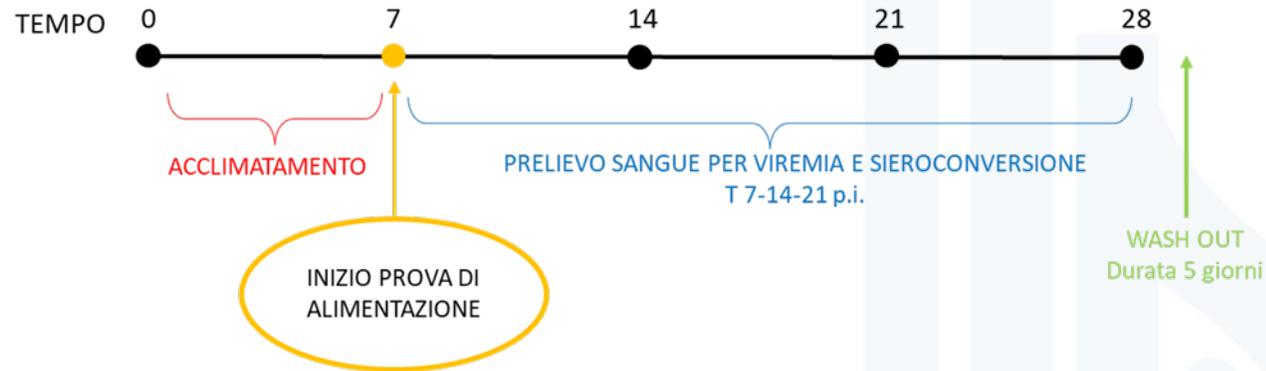
Acclimatamento
(7 Giorni)

Giorno 0
Prelievo Siero e
Sangue e Challenge

Giorno 4-5
Prelievo Siero e
Sangue +
Temperatura

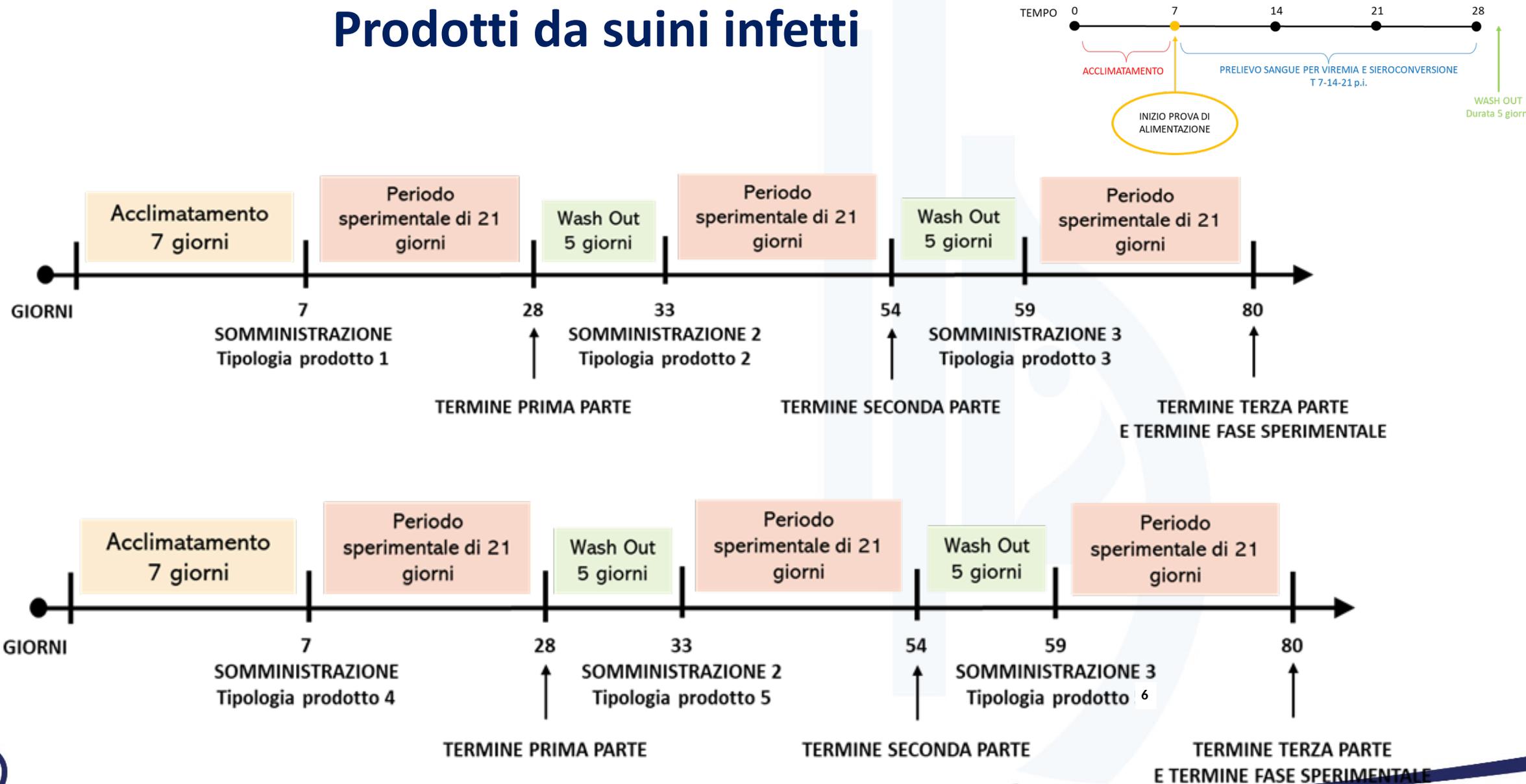
Giorno 6-7
Prelievo Siero e Sangue
+ Temperatura e
Abbattimento

PROVE DI ALIMENTAZIONE CON PROSCIUTTI

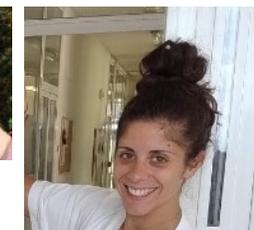


PROVE DI ALIMENTAZIONE CON SALAMI

Prodotti da suini infetti



Dott. PF. Catarci
Dott. M. Ianniello
Dott. U. Della Marta
Dott. N. Santini



Partners:

IZSLER, IZSve, IZSAM

Dott. G. Meriardi, IZSLER

Dott. A. Cereser, IZSve

Dott. F. Pomilio, IZSAM

Dott.ssa ML. Danzetta, IZSAM

Dott. A. Lavazza, IZSLER

Dott.ssa A. Moreno, IZSLER

Dott. D. Lelli, IZSLER

Dott.ssa L. Ceglie, IZSve

Gli stakeholders

ASSICA: Dott. D. Calderone

SSICA: Dott. A. Brutti, Dott.ssa Virgili

Consorzio del Prosciutto di Parma

Consorzio del Prosciutto di San Daniele

Gruppo Alimentare Valtiberino: Dott.ssa G. Falcitelli

Salumificio Negroni, Cremona

Terre Ducali, Parma

Gruppo Martini